

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS

Sección de Biológicas. inéditas



TESIS DOCTORAL

**Estudio de los niveles residuales de plaguicidas
organoclorados en especies de la fauna nacional : significado
ecológico y su relación con la contaminación del medio
ambiente**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

José Mariano Franco Soler

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION DE BIOLOGICAS

BIBLIOTECA UCM



5306711185

ESTUDIO DE LOS NIVELES RESIDUALES DE PLAGUICI-
DAS ORGANOCOLORADOS EN ESPECIES DE LA FAU-
NA NACIONAL. SIGNIFICADO ECOLOGICO Y SU -
RELACION CON LA CONTAMINACION DEL MEDIO -
AMBIENTE.

MEMORIA

presentada para optar al grado de Doctor
en Ciencias Biológicas por

JOSE MARIANO FRANCO SOLER



R. 25.596

Madrid - Mayo - 1972

Este trabajo ha sido realizado en el Instituto de Química Orgánica General del Patronato "Juán de la Cierva", bajo la dirección del Dr. D. Gonzalo Baluja Marcos, a quien expreso mi más profundo agradecimiento.

Asímismo, agradezco a la Dirección del Instituto las facilidades concedidas para su terminación y a la Comisaría del Plan de Desarrollo la ayuda económica que me ha dispensado durante los años 1969-1972.

He de mostrar mi reconocimiento al Dr. D. Manuel Dabbrio Bañuls por sus valiosas orientaciones en el campo de la cromatografía gas-líquido, así como a D. Miguel-Angel Murado García, inestimable compañero de laboratorio.

La mayoría de las muestras objeto de análisis han sido enviadas por los laboratorios de Investigaciones Pesqueras de Barcelona, Castellón y Vigo del mismo Patronato y por el laboratorio de Santander del Instituto Oceanográfico Español, a cuyos Directores y personal hago patente mi gratitud por las molestias que se han tomado.

Por último he de agradecer sinceramente la ayuda que me han prestado todas aquellas personas que anónimamente han colaborado en la terminación de esta Memoria.

INDICE

=====

<u>PARTE I.</u>	<u>Pág.</u>
1.- Introducción	1
2.- Los plaguicidas y la contaminación del medio ambiente	5
3.- Como se produce la contaminación residual en el medio	11
4.- Toxicidad residual	15
4.1.- Incidencia sobre los sistemas ecológicos	15
4.2.- Incidencia en los cambios de poblaciones	25
4.3.- Incidencia en la fisiología y comportamiento de las especies	28
5.- Dinámica de los residuos en el organismo animal	31
 <u>PARTE II.</u>	
1.- El consumo de plaguicidas en España	34
 <u>PARTE III.</u>	
1.- Muestras. Especies utilizadas. Descripción somera de sus características, habitat y costumbres	43
2.- Métodos de extracción de tejidos y órganos de las especies y muestras descritas	52
2.1.- Extracción directa con hexano en caliente	53

	<u>Pág.</u>
2.2.- Extracción en aparato Soxhlet	54
2.3.- Extracción de suelos y sedimentos	54
2.4.- Extracción de aguas	55
3.- Purificación de los extractos	56
3.1.- Reparto en hexano:dimetilformamida ..	57
3.2.- Reparto en hexano:acetonitrilo	58
3.3.- Cromatografía de adsorción	59

PARTE IV.

1.- Estudio y puesta a punto de metodologías para la detección y medida de residuos órganoclorados	62
2.- Cromatografía gas-líquido	64
2.1.- Detector de captura electrónica	66
2.2.-Columnas cromatográficas	67
2.3.- Gas portador	81
3.- Confirmación de la identidad química de los residuos. Interferencias	83
4.- Interpretación de los cromatogramas y determinación cuantitativa de residuos	94

PARTE V.

1.- Resultados obtenidos de las especies y muestras descritas	112
1.1.- Medio terrestre	113
1.2.- Medio fluvial	117

	<u>Pág.</u>
1.3.- Medio marino	124
2.- Significado biológico de los niveles de resí- duos encontrados	138
3.- Cuenca del rio Llobregat	156
3.1.- Primer muestreo	157
3.2.- Segundo muestreo	162
4.- Significado biológico de los niveles de resí- duos encontrados	171
 <u>PARTE VI.</u>	
1.- Conclusiones	184
 <u>APENDICE.</u>	
Nomenclatura química de los compuestos citados - en esta Memoria	192
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	195

PARTE I

1.- INTRODUCCION.

El fuerte impacto originado por la cada vez más incisiva influencia de los plaguicidas en los programas agrícolas y sanitarios mundiales, ha creado una serie de complicados problemas como consecuencia de su producción, distribución y aplicación. Concretamente, las consecuencias toxicológicas de su presencia residual en el medio, ha movido a diversos organismos internacionales a intervenir con programas orientados hacia el estudio sistemático de los residuos de plaguicidas, su toxicidad y su significado biológico.

Al aceptar el hecho de la necesidad del control de las plagas, otros problemas se plantean en el sentido de la aparición de nuevos y graves peligros que, al concentrarse cada día, aportan sucesivos datos sobre la magnificación biológica de la cuestión. Estos peligros se centran en las propiedades y presencia de residuos de plaguicidas, cuya particular significación se refleja en el gran interés que dentro y fuera de la comunidad científica suscita su potencial-presencia en todas las partes del ambiente y en el hombre.

Centrados, como quedan, los conceptos y relaciones entre plaguicidas: su necesidad, de un lado y de otro, las consecuencias-derivadas de la contaminación de la biosfera, merecen concretarse algunos puntos en este sentido, y son los siguientes:

La significación biológica de los plaguicidas en el ambiente y en los organismos de vertebrados e invertebrados es todavía poco conocida.

El estudio de las acciones biológicas de los plaguicidas presenta profundos problemas en los campos de la bioquímica, genética, biología molecular y evolución.

Es en extremo difícil determinar previamente las dosis subclínicas de un compuesto capaces de alterar la fisiología de un organismo.

El extraordinario y progresivo aumento de los niveles de residuos en las etapas de las cadenas alimenticias y la distinta situación de los plaguicidas frente a diferentes formas de vida animal.

Por otra parte, es importante señalar que en una reunión celebrada en 1966 en París por un equipo de científicos especialistas, convocados por la OCDE, para el estudio de la contaminación no intencionada del medio ambiente por residuos de plaguicidas, han convenido conjuntamente en manifestarse en los siguientes puntos básicos:

Se reconoce que si los plaguicidas persistentes en el medio son de un enorme valor para la humanidad y, en muchos casos, son los únicos medios eficaces conocidos para el control de las enfermedades y la disponibilidad de mayores recursos alimenticios, estos beneficios están acompañados de complicados problemas, que surgen de la presencia de sus residuos en el medio ambiente.

Se acepta que las dimensiones de estos problemas no están delimitadas y que su materia podría ser apropiadamente considerada como una faceta de la contaminación ambiental. La presencia imprevista de plaguicidas residuales debe proceder del uso de estos compuestos e incluso de procesos industriales.

La carencia de información sobre su presencia y el significado biológico, ha conducido a que se realizasen algunas declaraciones públicas que han ocasionado temores innecesarios. Esto es debido probablemente a la falta de información sobre la presencia y distribución de residuos y, aún menos, sobre su significado biológico, pero si se alcanza un mayor conocimiento sobre los niveles y efectos, se lograría tranquilizar a la opinión pública.

Los países miembros de la OCDE deben realizar investigaciones que conduzcan al conocimiento de los efectos biológicos sobre individuos, poblaciones y ecosistemas, tanto sobre los residuos — actualmente presentes, como para aquellos más elevados niveles que pudiesen ser encontrados en el futuro. La cooperación internacional sobre esta materia de investigación, sería mejor realizada a nivel de laboratorio y con libre circulación de información entre países. La investigación dirigida al logro de tal entendimiento, debe estar informada de que los residuos de plaguicidas pueden estar presentes — con otros agentes contaminantes y, por lo tanto, ser influenciados por estos últimos. La interpretación correcta de los efectos biológicos habrá de permitir la descripción de los niveles deseados de la calidad del medio ambiente.

El control de la expansión residual en la atmósfera y en los océanos, sería logrado únicamente por acciones internacionales y en cuanto que los países contribuyen con sus investigaciones e información.

Una vez considerados los antedichos conceptos, conviene terminar esta introducción a nuestra memoria, expresando que el enfrentamiento con las cuestiones que surgen del empleo de plaguicidas y la contaminación, viene caracterizado por la necesidad de utilización de metodologías científicas especiales. Sólo haciendo uso de criterios y técnicas particulares, puede asegurarse la presencia o ausencia de la contaminación por plaguicidas, cuyo significado interesa, indudablemente, al científico en cuanto aporta nuevos temas de investigación, pero cuya proyección alcanza al médico, al abogado, al legislador y a los administradores del Gobierno.

Debe señalarse, finalmente, que una gran parte de la investigación reflejada en esta memoria, fué realizada dentro de un programa de cooperación internacional entre los países miembros de la OCDE.

2.- LOS PLAGUICIDAS Y LA CONTAMINACION DEL MEDIO AMBIENTE.

Los plaguicidas forman parte de un grupo de productos activos sumamente extenso, no solo de compuestos orgánicos, sino también de compuestos inorgánicos e incluso elementos simples, tales como el azufre, arsénico y algunos otros.

Para definir los plaguicidas, se podría decir que son aquellos productos y métodos dedicados, en general, a exterminar de una forma eficaz, económica y con el menor riesgo, los sistemas vivientes que estropean, destruyen o sirven de vehículos a enfermedades de otros sistemas vivientes como son los que componen la ganadería, la agricultura e incluso el hombre.

Se podría clasificar a los plaguicidas por su estructura química o por su modo de acción, pero parece más conveniente para nuestro propósito clasificarlos por su persistencia en el medio ambiente, dado que a lo largo de esta memoria se van a tratar las implicaciones que tienen en dicho medio y, en sentido amplio, de un grupo químico particular.

Sobre esta base, esto es, con unos factores abióticos de un medio standardizado, reproducible en cualquier momento, se pueden agrupar en cuatro categorías:

- a) no persistentes o altamente degradables
- b) moderadamente persistentes
- c) persistentes
- d) permanentes.

En la tabla 1 se ponen de manifiesto algunos insecticidas de los tres primeros grupos, ya que se considera a los permanentes - como aquellos que no tienen límite en el tiempo para ser degradados. Este grupo lo componen los compuestos de mercurio y arsénico, y - otros semejantes, que basan su acción en el átomo inorgánico y que - suelen estar considerados del tipo de "amplio espectro".

TABLA 1. (Datos tomados de varios autores).

Insecticidas	Dosis aplicadas (Kg/Ha.)	Periodos para 95 % de- saparición.
Parathión	5,5	75-85 días
Thimet	5,5	50-60 "
(1) Guthión	5,5	25-35 "
Metil-parathión	5,5	15-20 "
Malathión	5,5	5- 8 "
(2) Sevin	5,5	50-60 días
DDT	1,13-2,77	4-30 años
Dieldrín	1,13-3,36	3-10 "
Lindano	1,13-2,77	3-10 "
(3) Heptacloro	1,13-3,36	3- 5 "
Clordano	1,13-2,23	3- 5 "
Telodrín	0,28-1,13	2- 7 "
Aldrín	1,13-3,36	1- 6 "
(1) -Organofosforados, (2)-Carbamatos, (3)-Organoclorados.		

De esta tabla se deduce que los insecticidas no persistentes (órganofosforados y carbamatos en general), poseen un periodo de actividad no superior a 12 semanas. Los moderados (algunos carbamatos y herbicidas derivados del 2,4 D) no suelen pasar de las 18 semanas y los persistentes (órganoclorados) con una vida media residual de 7-10 años aproximadamente.

La concentración, frecuencia de los tratamientos y sus intervalos, influyen en la persistencia. Otros factores que afectan a la vida media son los agentes modificadores que se añaden a las formulaciones de los plaguicidas. En la Tabla 2 se exponen algunos datos sobre residuos de DDT encontrados en uva tratada a diferentes concentraciones de productos formulado (1).

El problema se complica cuando, no solamente, se han de tener en cuenta las variables antes expuestas, sino, también todos los factores abióticos particularizados de cada ecosistema y, además los bióticos, entonces es imposible hacer predicciones y únicamente un estudio exhaustivo de cada caso podría ofrecer datos representativos.

Los factores más importantes que intervienen en la persistencia dentro de un sistema ecológico son: tipo de suelo, luminosidad, humedad, temperatura, aireación del suelo, cantidad y especie de vegetación, microbiología y macrobiología. Si fuera acuático se cambiaría el suelo y humedad para indicar si se trata de un lago, rio o mar, y cantidad de aporte terreo que transporta o contiene.

TABLA 2.

Dosis	Nº de tratamientos	Días entre último tratamiento y recogida.	DDT residual (ppm)
0,3 g. polvo de 50%/l.	4	57	1,6
0,9 g. polvo de 50%/l.	2	74	1,0
	4	38-57 (x)	1,4-2,8
0,9 g. polvo de 50%/l.	2	44-74	0,8-6,2
	3	39-59	1,0-3,8
	4	35-57	2,2-6,4
	5	35-56	3,5-11,1
0,9 g. polvo de 75%/l.	2	35-75	0,6-2,5
	4	34-35	3,0-4,9
0,9 g. polvo de 50%/l.	3	33-39	4,4-6,5
+ agente mojante	4	37	4,1-5,4
0,9 g. polvo de 50%/l.	3	50	2,4
+ fijador	4	38	2,0-4,8
0,9 g. polvo de 50%/l.	2	76-81	1,4-2,0
+ fijador y repartidor	3	28-42	2,0-3,8
	4	34-43	3,1-10,2
0,9 g. polvo de 75 %/l.	3	34	5,6
+ fijador y repartidor	4	32-37	3,4-7,5

(x) Tratamientos en los intervalos expresados.

Posteriormente habrán de ser analizados los problemas que trae consigo el uso de los plaguicidas y el daño que pueden causar al conjunto de un ecosistema.

Pero, conviene hacer unas consideraciones previas sobre el papel que han desempeñado y desempeñan los plaguicidas en cuanto al control de las plagas. Fundamentalmente, estos aspectos positivos se resumen en la tabla 3. (2):

TABLA 3:- Producciones agrícolas y pérdidas por plagas de insectos - estimados en conjunto para Sur y Centroamérica, Europa, África, Asia y Oceanía.

Cosechas	Producción (miles Tm.)	Pérdidas (miles Tm.)	Causadas por - insectos (%)
Algodón (excepto Oceanía).	5.093	--	17,7
Trigo, Avena, Cebada - Centeno.	201.201	11.213	5,5
Maiz	87.461	20.135	23,0
Verduras y productos -- hortícolas.	182.059	20.865	11,4
Remolacha azucarera - (excepto África, Oceanía y Centroamérica).	108.554	9.735	8,9
Tabaco	2.933	443	15,1
Semillas oleaginosas	42.479	9.345	22,0

Los norteamericanos han calculado que el rendimiento -- agrícola de su país ha aumentado en un 300 % desde 1.920 a 1.960. De un estudio estadístico, obtienen los siguientes datos (3):

Año 1850 un agricultor produce alimentos para 4,2 personas
 " 1900 " " " " " 7,0 "

Año 1940 un agricultor produce alimentos para 10,5 personas.

"	1950	"	"	"	"	15,5	"
"	1960	"	"	"	"	25,0	"
"	1980	"	"	"	"	50,0	" (supuesto)

Según estas cifras la expectativa es halagueña, pues se — ha pasado de una época relativamente pobre (esto sin tener en cuenta los aumentos de población) que abarca desde 1850-1930 a una notable elevación entre 1945-1965, en que la alimentación ofrecida por un solo agricultor es considerable. Todo esto se debe, indudablemente, a las mejoras alcanzadas en los sectores de la ciencia y de las técnicas agrícolas.

Son también, beneficios la redención de grandes zonas insalubres y el control de ciertas enfermedades endémicas en algunas regiones del mundo. Sin embargo, este aspecto positivo va acompañado generalmente, de otro negativo; el problema que se suscita es el de — que, al mismo tiempo que se produce más, peor es la calidad de — los productos. En USA, las importaciones de determinados pescados, — ya sea en conserva o congelados, poseen altas cantidades residuales de plaguicidas, que pueden influir de multitud de formas en el hombre, ya que los efectos secundarios de estos compuestos están poco — estudiados, conociéndose muy parcialmente el modo de acción sobre — las mismas plagas que se combaten.

3.- COMO SE PRODUCE LA CONTAMINACION RESIDUAL EN EL MEDIO.

La contaminación es un problema de estudio muy complejo y necesario; en sentido amplio se entiende como un fenómeno producido por todos aquellos compuestos que son extraños en la Naturaleza y es una resultante de una parte de la actividad humana — en la que están implicadas las industrias, humos, tratamientos agrícolas, sanitarios, etc.

En el caso que aquí se plantea se va a analizar este problema desde el punto de vista de los plaguicidas, especialmente de los órganoclorados y productos de estructuras relacionadas en general, a los que está dedicada esta memoria.

Las fuentes de contaminación hay que empezar a buscarlas en los procesos de fabricación. El mayor peligro, en esta primera etapa, se produce con las aguas o aire necesarios en toda industria, si estos vuelven otra vez al exterior sin las suficientes medidas de control de su pureza, la contaminación se produce.

Una segunda fase, el envasado y transporte, también implica una serie de riesgos; por ejemplo, si el envase no es adecuado, puede romperse o corroerse durante el periodo de almacenamiento o de transporte.

Las amas de casa y jardineros, dan lugar a lo que se podría llamar contaminación doméstica y urbana, que tiene menos re-

percusión en el medio ambiente natural y en las ciudades, pues las cantidades de insecticidas empleadas no son muy grandes comparadas con las utilizadas en los tratamientos agrícolas.

En la tabla 4, se exponen algunos datos sobre consumo mundial de plaguicidas agrícolas en 1966, estimados según el tipo de cultivos (4).

TABLA 4.

Cosechas	Insecticidas totales. (miles Tm.)	Corresponde a órganoclorados (%) (x)
Algodón	60,4	38
Arroz	12,0	57
Otros cereales	7,5	85
Verduras y productos hortícolas	6,8	46
Patatas	2,8	61
Remolacha azucarera	2,4	55
Caña de azúcar	2,1	74
Tabaco	2,0	67
Semillas oleaginosas	1,9	77
Café	0,8	81
Té	0,5	19
Boniatos	0,2	92

(x)- Aldrín, HCH, Clordano, DDT, Dieldrín, Endrín, Heptacloro y Toxafeno.

Si se relacionan las cantidades empleadas con la persistencia en el medio de los insecticidas órganoclorados (Tabla 1), se podría deducir que todavía perduran, es decir, que no ha desaparecido la contaminación producida en el año 1966, después de realizar los tratamientos correspondientes a dicho año.

La figura 1 explica esquemáticamente los mecanismos de la dinámica residual en el medio ambiente. En el transporte, el agua ejerce una actividad muy importante, ya que la diseminación se efectúa no solamente con los productos solubilizados, sino que la mayoría, en un 90 % o más van adsorbidos en las partículas coloidales de todo tipo que transporta, procedentes del aire, por precipitación, y del arrastre de los suelos con cargas residuales.

La importancia del agua como componente indispensable para todo sistema viviente hace que los vegetales y animales constituyan los intermediarios más eficaces para la diseminación de los plaguicidas.

Este dinamismo residual es lo que ha contribuido a que se encontrase DDT en el círculo polar ártico y en especies animales, que por su habitat, parecería imposible su contaminación. Puede considerarse que el DDT, el insecticida órganoclorado que ha sido usado en mayor escala, ya está repartido por toda la corteza terrestre a muy diversos niveles de concentración.

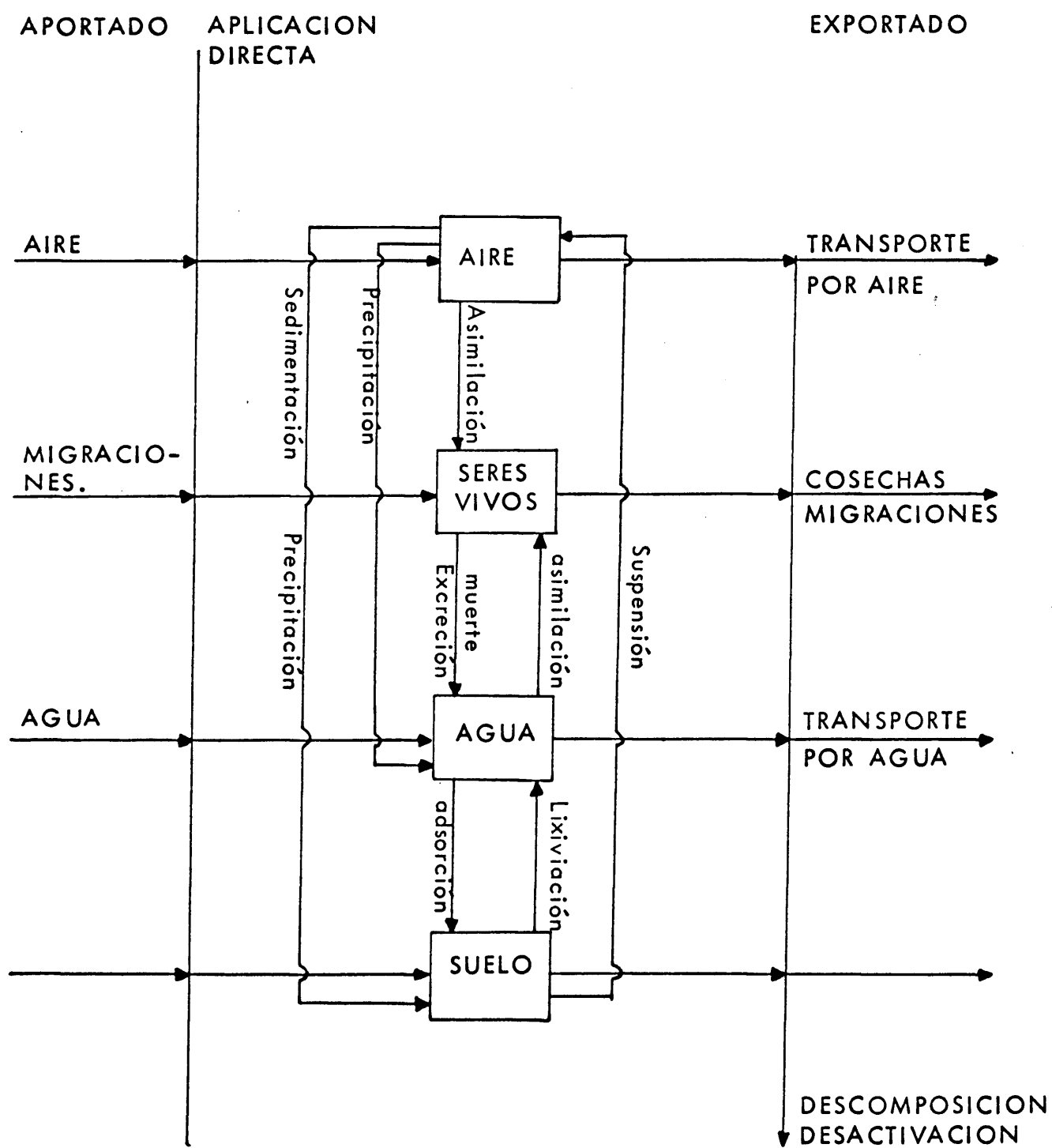


Fig. 1: Diagrama del movimiento de los plaguicidas residuales en un sistema regional (5)

4.- TOXICIDAD RESIDUAL.

Por toxicidad residual se entiende el efecto tóxico producido por muy bajos niveles de residuos activos de plaguicidas persistentes en el medio o de los subproductos resultantes de su transformación físico-química o bioquímica. Debe considerarse normalmente como una toxicidad crónica o a largo plazo. Sobre esta base cabe indicar que la medida del peligro que puede representar en el medio está directamente relacionado con el efecto que producen los plaguicidas o los residuos que desarrolla después de ser aplicados.

El efecto biológico de los compuestos órganofosforados, (muy degradables), dá lugar generalmente a toxipatías agudas, por contacto o ingestión, ocasionando la muerte o desarreglos fisiológicos en su mayoría irreversibles. La probabilidad de que esto ocurra, exceptuando a la plaga que se combate, es muy baja, dado su alto índice de degradación en el medio.

4.1.- INCIDENCIA SOBRE LOS SISTEMAS ECOLOGICOS.

La mayoría de los efectos deletereos de los plaguicidas persistentes son ocasionados por una vía indirecta, que puede significar una variedad de formas, desde el cambio en el equilibrio biológico, con todas las consecuencias que trae consigo, hasta malformaciones fisiológicas y genéticas que se pueden producir por la acumulación de residuos.

53067 11185

E.G. Hunt (6) indica que en el lago Clear (California) se utilizó TDE para controlar el mosquito Chaoborus astictopus y después de analizar detenidamente la zona donde se había utilizado el insecticida fueron encontrados los siguientes resultados:

agua del lago	→	planctón	→	peces fitófagos	→	peces ictiófagos	→	aves ictiófagas
(0,014 ppm)		(5,3 ppm)		(40-400 ppm)		(2.500 ppm)		1.600-2.000 ppm)

G.M. Woodwell (7) realizó un estudio sobre diversos ecosistemas muy relacionados entre ellos, con respecto a la dinámica del DDT. En la figura 2, se encuentran esquematizados los resultados, con lo que se pueden seguir las diversas vías del movimiento residual, que se inicia en las plantas verdes, que mediante sus procesos fotosintéticos crecen y acumulan producto, ya en su forma original o transformada, de aquí pasa a los organismos hervívoros, siguiendo los omnívoros, carnívoros, supercarnívoros y por último alcanza a los microorganismos de la descomposición (saprófitos).

Cuando uno de estos productos se encuentra dentro de alguna de estas vías de penetración, sus movimientos y efectos biológicos implican a numerosas especies en muy diversa forma. Si su primer efecto es el de exterminar o controlar las plagas, al cabo de cierto tiempo se acumulan en el resto de las especies que forman el sistema.

En la tobla 5 se indican los efectos de algunos insectici-
das órganoclorados en especies de vida silvestre, de diversas zonas
agrícolas americanas que fueron sometidas a tratamiento contra pla-
gas (8).

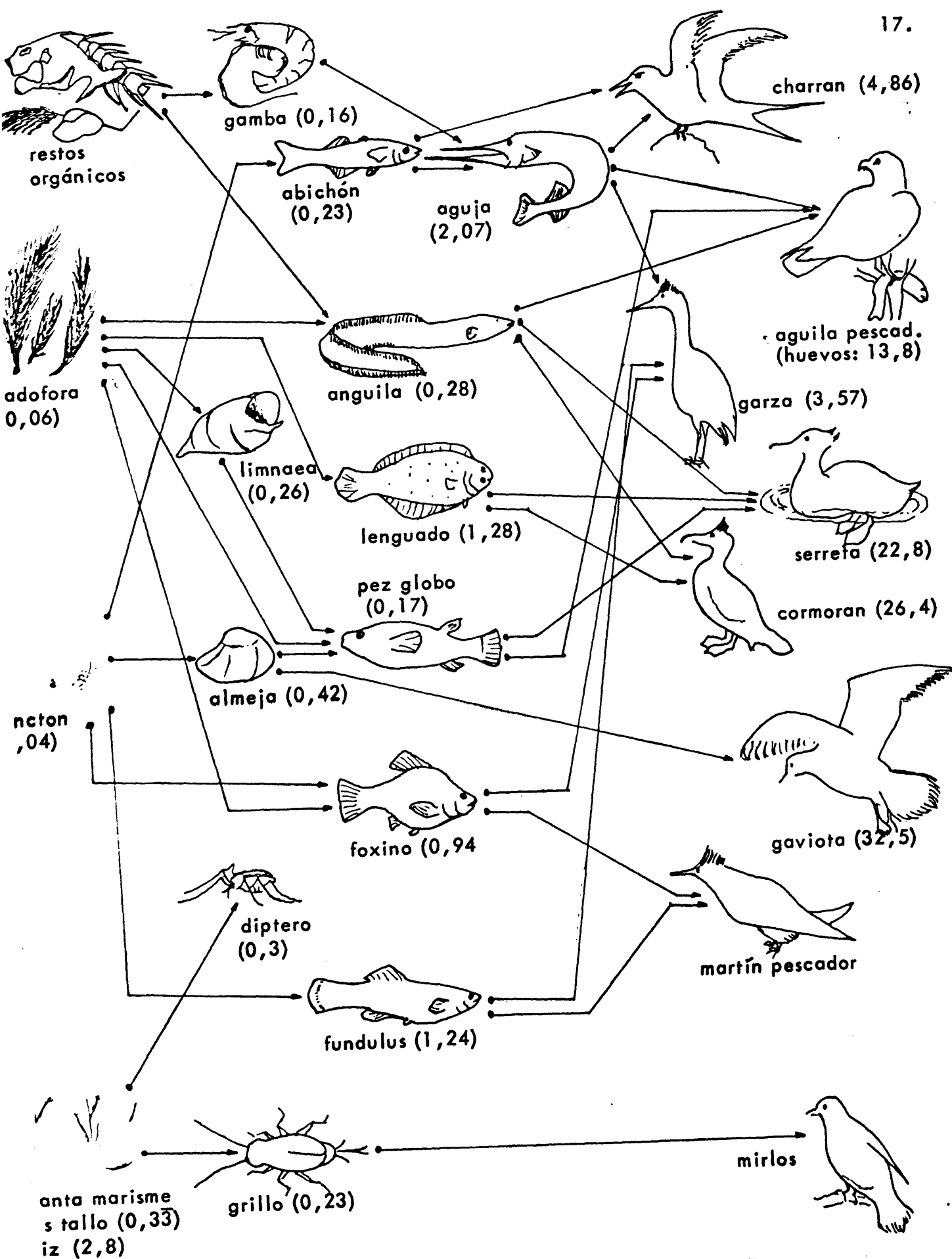


Fig. 2.- Las cifras entre paréntesis indican ppm de DDT

TABLA 5.

Insectic.	Dosis (Kg/Ha.)	Propósito	Efecto
Aldrín	-	Protección en siembra de arroz.	Relativa mortalidad de patos
Aldrín	2,1	Control del escarabajo japonés	Casi completa eliminación de aves cantoras, gran mortalidad de aves de presa, alguna mortalidad de <u>ma</u> míferos
DDT	-	Control de enfermedades en olmos.	Gran mortalidad de petirrojos y — aves cantoras
DDT	-	Contra polillas y <u>táb</u> anos	Cese de reproducción en la trucha debido a la muerte de alevines
DDT	-	Protección forestal	Muerte de truchas debido al agotamiento de alimento. Muerte de muchos peces y algunas aves.
DDT	-	Drenajes agrícolas	Muerte de muchos peces y algunas aves
DDT	0,5-1,0	Control de orugas del abeto.	Poblaciones de salmón y truchas <u>re</u> ducidas
DDT	-	Control de plagas del arroz	Algunas muertes en ánades, faisanes y otras aves.
DDT	0,2-1,7	Control de mosquitos	Muerte de peces, cangrejos, ranas, lagartos y serpientes.
Dieldrín	2,0-3,0	Control de escarabajos japonés	Gran mortalidad de codornices, aves cantoras, acuáticas, conejos y algún otro mamífero

TABLA 5 (continuación).

Insectic.	Dosis (Kg/Ha.)	Propósito	Efecto
Dieldrín DDT y otros	-	Aplicaciones rutinarias -- agrícolas.	Disminución en la reproducción de faisanes.
Dieldrín	1,0	Control de - larvas de dí- pteros.	Gran mortalidad piscícola
Endrín	0,9	Control de - procesiona- ria.	Gran mortalidad de conejos.
Heptacloro o Dieldrín	2,1	Control de - hormigas y - termes	Virtual eliminación de aves, pobla- ción de codornices diezmadas duran- te tres años.
Heptacloro	2,1	Control de - escarabajo - japonés.	Gran mortalidad de aves cantoras
Insecticidas del algodón	-	Control de - insectos del algodón.	Muerte de algunos conejos, aves, serpientes, peces y ranas
Toxafeno	-	Protección - del grano	Gran mortalidad de aves ictiófagas durante tres años.
Insecticidas del algodón	-	Control de- algodonales	Gran mortalidad de peces

Después de analizar la tabla anterior se observa que las especies silvestres se encuentran frecuentemente expuestas a los efectos tóxicos de los insecticidas de una forma comparable a las pla-

gas que se pretende eliminar. En dicha tabla se encuentran expresados solamente vertebrados, pero las experiencias efectuadas con lombriz de tierra indican lo siguiente: con 2,6 Kg/Ha. de DDT, se encontraron acumulaciones de 21 ppm en su cuerpo; la actividad se para totalmente con 9,3 Kg/Ha. de Clordano o Dieldrín, y la aplicación de 23,4 Kg/Ha. de DDT da lugar a una reducción considerable en la actividad normal y se acumula hasta un nivel de 56 ppm (9).

De esta fase de lombrices de tierra se puede pasar inmediatamente a cualquier otro escalón, ya que estos oligoquetos son la base de la alimentación de un considerable número de especies — animales.

Los efectos tóxicos agudos producidos de forma directa por los insecticidas clorados, están reflejados en la tabla 6, en la — que se recogen algunos datos sobre dosis letales y los niveles máximos que el organismo humano puede tolerar sin efectos apreciables.

TABLA 6 (tomado de diferentes fuentes).

Insecticida	DL ₅₀ aguda oral en ratas (mg/Kg).	Ingestión máxima diaria aceptable (mg/Kg).
DDT	250	0,01
DDE	no tóxico	-
TDE	3.400	-
Dieldrín	37- 87	0,0001
Lindano	125-200	0,0125
Heptacloro	60-142	0,0005
Aldrín	34-54	0,0001
Endrín	7-40	no determinado

A partir de los datos expuestos, se pueden analizar todos los que a continuación van a ser considerados, pero es conveniente hacer una salvedad, y es que además de los efectos primarios causados por la acción directa de los insecticidas, hay que tener en cuenta, también, los efectos secundarios que se producen por la acción conjunta del medio ambiente, en donde se hacen los tratamientos, esto es, la acción sinérgica que se verá más adelante, por falta de alimentación adecuada y la contaminación de las cadenas alimenticias disponibles. Este efecto es tanto más acusado en las aves, con alimentación bastante especializada y de elevado contenido energético para compensar el elevado gasto de su mecanismo de vuelo

De Witt y George (10) han analizado un grupo muy numeroso y representativo de aves, ya encontradas muertas o capturadas vivas en distintos periodos sucesivos al tratamiento con heptacloro en 1960; los resultados están resumidos en la tabla 7. Debe, no obstante, hacerse notar que el heptacloro se ha convertido en su epóxido por oxidación enzimática en el organismo animal, y este compuesto de transformación es el que se determina en la evaluación del nivel residual.

TABLA 7. Contenido de heptacloro epóxido en algunas aves capturadas en áreas tratadas con heptacloro.

Especies	Insecticida en tejidos (ppm)		
	Encontradas muertas		Capturadas -- 6-12 meses pos tratam.
	3 semanas postratam	11-12 meses postratam.	
Bisbita ribereño	38,0	-	8,0
Sinsonte	27,4	-	-
Gorrión de pradera	26,2	6,2	2,1

../..

TABLA 7 (Continuación)

Especies	Insecticida en tejidos (ppm).		
	Encontradas muertas		Capturadas 6-12 meses postratam.
	3 semanas postratam.	11-12 meses postratam.	
Gorrión norteamericano	22,3	1,0	-
Gorrión montés	11,9	-	0,0
Gorrión garganta blanca	20,0	11,3	Tr.
Estornino	7,4	30,2	-
Petirrojo	12,1	13,5	0,0
Agachadiza común	2,7	-	0,0
Zorzal marrón	16,6	-	22,3
Alondra	10,7	9,6	0,7
Paloma	5,8	-	1,0

Paralelamente de Witt analizó también 307 aves ictiófagas encontradas muertas en Mayo-Junio de 1960 en el lago Tule (California y en la reserva del Bajo Klamath (California (11). Los resultados están resumidos en la tabla 8.

TABLA 8. Contaminación encontrada en tejidos y órganos de tres especies de aves ictiófagas.

Especies	Insecticidas en tejidos (ppm)		
	Toxafeno	DDT+DDE	TDE y metabolitos
Pelicano blanco hígado	8	0,0	7
Pelicano blanco riñón	13	0,0	7
Pelicano blanco hígado	9	0,0	6
Pelicano blanco riñón	14	0,0	8
Pelicano blanco 1/2 ave	4	48,0	15
Pelicano blanco hígado	7	64,0	15
Pelicano blanco riñón	4	24,0	12
Garza azul ave total	10	3,0	0,0
Carceta americana ave total	17	138,0	52

En el caso de los mamíferos, la exposición a los insecticidas es similar a la del resto de los grupos de Vertebrados, aunque se -- pueden hacer algunas distinciones al respecto. La alimentación es -- mucho más especializada y, por tanto, los hervívoros se encuentran situados en primer lugar, en la recepción de residuos; le siguen los -- omnívoros y por último los carnívoros en general. A su favor se encuentra una defensa fisiológica mejor, principalmente en el hígado y sobre todo con un sistema excretor muy evolucionado. Esto se refleja en los resultados encontrados por De Witt et al. (12), expresados en la tabla 9.

TABLA 9. Heptacloro epóxido contenido en tejidos y órganos de mamíferos capturados en áreas tratadas con heptacloro.

Especies	ppm de heptacloro epóxido					
	Encontrado muerto 1 mes postratam.	Capturado 1 año pos tratam.	Hígado	Riñón	Cora-- zón.	Cere-- bro.
Gato			21,8	11,4	17,4	6,1
Zorro rojo			18,3	16,1	21,4	22,8
Armadillo			7,7	2,2	Tr	Tr
Mofeta			2,2	18,7	-	-
Nutria			0,8	9,5	-	-
Conejo (a)	8,7		8,1	17,6	9,2	20,5
Zarigüeya			9,1	8,4	12,4	9,6
Ardilla gris		0,0	21,6	34,6	15,1	-
Mapache			12,8	13,7	16,6	15,7

(a) Dos especies de conejos.

../..

4.2.- INCIDENCIA DE LA CONTAMINACION RESIDUAL EN LOS CAMBIOS DE LA POBLACION

Los análisis individuales, en el rango de especie, quizás no pasen más que como datos anecdóticos, pero al llegar otra vez al rango de ecosistemas se encuentran un problema importante, los cambios que se pueden dar en las poblaciones animales y vegetales que los constituyen. Estos cambios empiezan en los insectos que se tratan de combatir y, en principio, son poco conspicuos en la biomasa del ecosistema, pero luego pueden afectar, de forma apreciable, al conjunto del sistema ecológico. Es interesante, a este respecto comentar los estudios realizados por V.M. Stern (13). En la figura 3, se observan dos gráficas; la A, muestra las acciones convencionales que se toman ante una plaga perenne; la B, como se debería realizar el tratamiento de forma racional.

En el primer caso la plaga se trata con insecticidas cuando traspasa el umbral de daño económico, volviendo la población a su nivel primitivo. Esto constituye una solución a corto plazo, pues al poco tiempo hay que volver a repetir el tratamiento, ya que el nivel de daño económico se encuentra amenazado y debe volver a bajar la plaga a la línea de porcentaje modificado de densidad.

En la gráfica B, se observa un descenso en la línea de equilibrio general, para dar lugar a otra nueva y que, indudablemente, se crea con un sistema integrado de control a base de cultivos con variedades resistentes, mejoras de las condiciones ambientales para los-

enemigos naturales (predadores y parásitos), métodos de esterilización - (radiaciones y quimioesterilizantes), eliminación de áreas de cría, utilización de insecticidas (a ser posible órganofosforados), etc. Como se ve, no se pretende la eliminación radical de los plaguicidas, sino que lo que se propone es la utilización de diferentes sistemas de con-

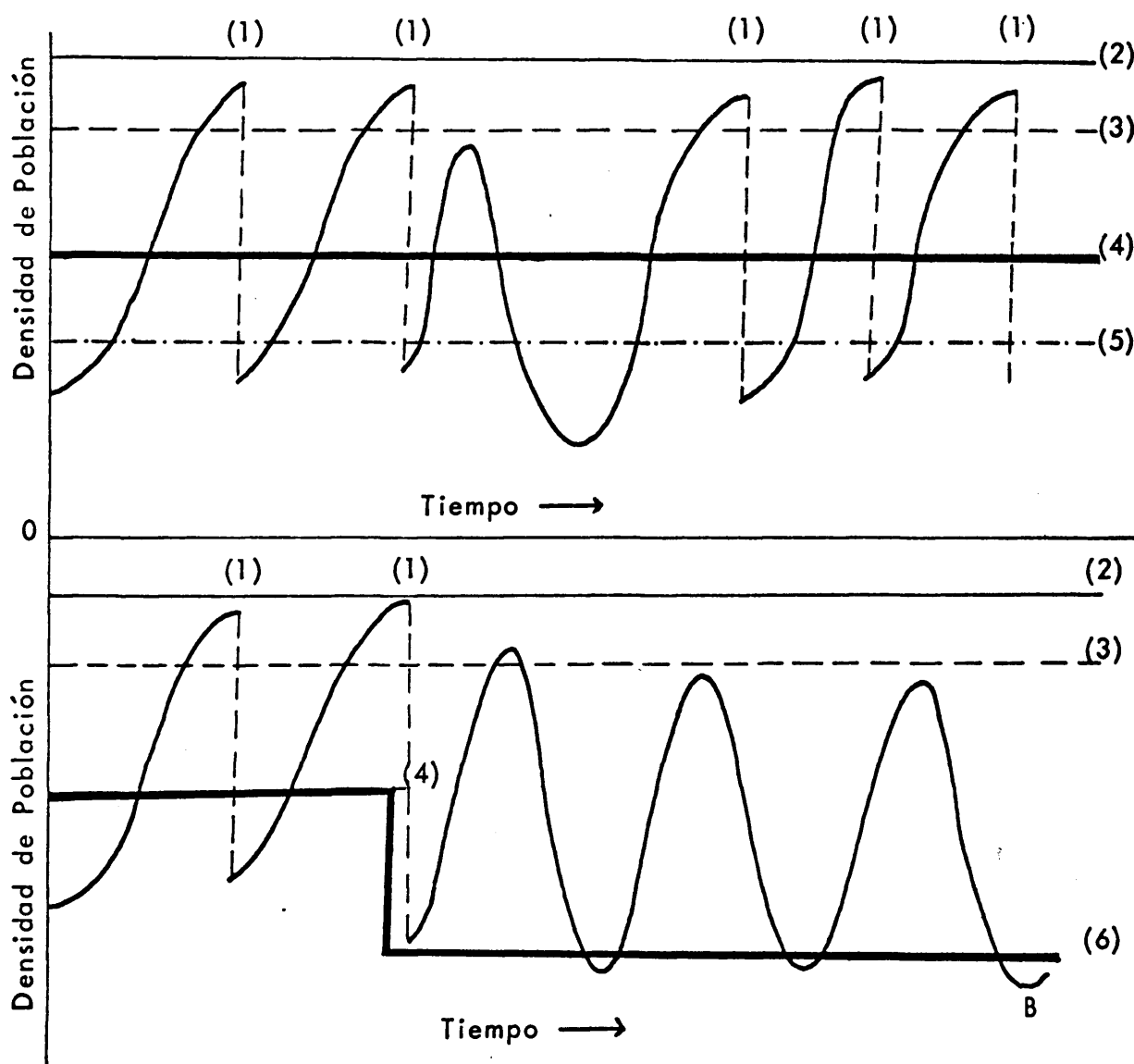


Fig. 3.- (1) Tratamiento con insecticidas, (2) Nivel de daños económico. (3) Umbral de daño económico. (4) Línea de equilibrio general. (5) Porcentaje modificado de densidad y (6) Nueva línea de equilibrio general.

trol, entre los que se encuentran los métodos biológicos, con el fin de lograr que las plagas no den lugar a cepas resistentes, hecho que está comprobado. Siguiendo, en líneas generales, la gráfica B, se podría mantener el control de la plaga, repercutiendo de una forma muy beneficiosa en el equilibrio de las poblaciones animales y vegetales -- que no están consideradas como tales, y que actualmente, en muchos casos, es muy precario.

No solamente las poblaciones que constituyen un determinado ecosistema son afectadas directamente por la acción tóxica de los insecticidas. En los medios acuáticos, el fitoplanctón, base de la alimentación del resto de los niveles tróficos en estos ecosistemas, puede verse seriamente afectado en su productividad. Butler (14) controló la productividad del fitoplanctón en presencia de pequeñas cantidades de órganoclorados durante cuatro horas; así cuando están presentes el al-drín, clordano, DDT, dieldrín, heptacloro, metoxicloro ó toxafeno, en una concentración de 1 ppm, disminuye la productividad en un 70-94 por ciento. El endrín, lindano o mirex, a la misma concentración y -- tiempo, la reducen sólo en un 28-46 por ciento.

4.3.- INCIDENCIA DE LOS RESIDUOS EN LA FISIOLOGIA Y EL COM- PORTAMIENTO DE LAS ESPECIES.

La resistencia a los insecticidas puede ser un factor que resulte beneficioso cuando se trata de especies no dañinas, pero si esta resistencia sólo lleva aparejada la acumulación del producto, el problema lo trasladamos al eslabón siguiente de la cadena trófica y entonces sería importante que el insecticida fuera rápidamente eliminado por cualquiera de los sistemas que poseen los organismos. Esto es bastante difícil y resulta mucho más fácil almacenarlo, sobre todo, - dado las características químicas y concentraciones a que se encuentran. De esta forma, un animal de gran capacidad de acumulación pone en peligro a la especie siguiente de la cadena. Es conocido que las aves migradoras pueden alimentarse de especies muy contaminadas durante su paso, y resultan entonces muy perjudicadas.

Los efectos de los insecticidas sobre los mecanismos fisiológicos se ha empezado a estudiar hace poco tiempo. Se observaron, - en primer lugar, cambios celulares en el hígado, con estimulación de las oxidaciones microsómicas de los productos administrados e hidroxilaciones microsomales de esteroides, incluidos los androgenos y estrogenos. La estimulación de estas hidroxilaciones puede dar lugar al decrecimiento de la fertilidad. O'Brien (15) después de estudiar este efecto, ha encontrado los resultados que se reflejan en la tabla 10:

TABLA 10. Efecto de insecticidas órganoclorados sobre la reproducción en faisanes y codornices (1).

	Nivel de la dieta. (ppm).	Reducción en huevos (%)	Reducción fertilidad (%)	Reducción incubación (%)	Mortalidad pollos de 6 semanas (%)
Faisán					
DDT	100	60	0	9	8
Aldrín	1	17	0	3	9
Dieldrín	1	0	0	0	0
Endrín	1	6	0	1	0
Codorniz					
DDT	200	0	0	5	85
Aldrín	1	23	0	0	6
Dieldrín	1	0	9	3	10
Endrín	1	0	0	6	25

(1) Todas las aves fueron alimentadas con dietas dosificadas con insecticidas durante el periodo reproductivo solamente.

El comportamiento de los padres frustados se encuentra modificado, sobre todo cuando se trata de animales coloniales, al ver que su nidada no sale, o que la cáscara es muy delgada y se rompen los huevos con facilidad. La agresividad se acentúa y ataca a la pareja o a otras parejas que anidan a su lado.

Las relaciones entre dieta y toxicidad son muy interesantes. Ratas alimentadas con dietas muy proteínicas resisten mejor la acción del DDT. Una dieta con 10 ppm de DDT hace disminuir el almacena

miento de vitamina A en el hígado de ratas a las que se les administra dicha vitamina por vía oral.

La deficiencia proteínica en la dieta aumenta la toxicidad de estos compuestos y ésto es debido a la estructura lipófila de los insecticidas clorados, que hace que se acumulen en el tejido adiposo fundamentalmente, de forma que un animal alimentado, sobre todo con grasas o glucidos, disuelven mejor dichos insecticidas. Las consecuencias de este efecto se ven de inmediato, si por cualquier motivo dicho animal tiene que pasar por un periodo de ayuno, por lo que debe movilizar sus reservas grasas, y entonces se libera el insecticida acumulado y al pasar a la corriente sanguínea puede afectar, de una forma irreversible, a su sistema nervioso (16).

3.- DINAMICA DE LOS RESIDUOS EN EL ORGANISMO ANIMAL.

Otro problema que debe ser considerado aquí brevemente es el de los aspectos cinéticos de los insecticidas dentro de los organismos vivos.

Fué mencionado anteriormente que las especies animales absorben insecticidas órganoclorados en su alimento y lo acumulan en sus tejidos, siendo, en algunos casos, más o menos transformados en compuestos susceptibles de ser eliminados, si bien el grado de trans-formación depende del tipo de molécula y de la habilidad celular pa-ra efectuar cambios estructurales. Generalmente se llega a un equili-brio o estado estacionario, ya que al ingerir pequeñas cantidades, las pérdidas y ganancias pueden alcanzar el mismo nivel aproximadamente.

Los insecticidas clorados que entran en el cuerpo por distintas rutas de penetración, se distribuyen en los diferentes tejidos por la corriente sanguínea. Las más altas concentraciones se encuentran en el tejido adiposo y órganos de alto contenido lipídico. Las más bajas se dan en la sangre y líquido cerebroespinal. La distribución entre la sangre y otros tejidos es un proceso reversible y la proporción de transferencia de un producto órganoclorado entre dos puntos contiguos, es función de la diferencia entre el potencial químico de los dos puntos.

La concentración de órganoclorados de forma estacionaria entre los tejidos y la sangre es en cierto modo análogo a un coeficiente de reparto. Algunos de los insecticidas que entran en el cuer-

po son eliminados sin cambio en su estructura química, pero la mayoría se transforman en productos hidrofílicos que son más fácilmente eliminados por la orina y heces. La proporción de la eliminación de un tejido es función de la concentración que en él exista y, en algunos casos, se parece a una reacción unimolecular.

Si la porción que entra es uniforme, la relación entre la -- concentración en un tejido y el tiempo de exposición al producto, parece que es de tipo asintótico, cuya representación supondría que la - concentración se aproxima a la asíntota en forma logarítmica (18). - El modelo simple de acumulación puede presentarse por la siguiente - ecuación:

$$\frac{dc}{dt} = \alpha - Kc$$

En donde α es la supuesta constante de entrada en el tejido, c la concentración durante el tiempo t y K la constante para el proceso de eliminación. Integrando se obtiene:

$$c = \alpha/K (1 - e^{-Kt})$$

donde α es función de la ingestión del insecticida y es, también, una característica del animal y del compuesto. La asíntota sería α/K y - es inversamente proporcional a la constante K para el proceso de eliminación.

Se han obtenido, experimentalmente, indicaciones de que las concentraciones pueden pasar por un máximo a partir del cual empiezan a declinar; este efecto no ha sido estudiado a fondo, pero es posi

ble que se deba a la estimulación enzimática. El expresado modelo -- puede ser fácilmente modificado para simular este proceso con un ajus te apropiado de la constante de transformación del insecticida en uno o más compartimentos. El efecto de una deficiencia en la dieta se -- puede simular variando el volumen o masa de los compartimentos, esto es, si suponemos que un individuo pasa hambre el volumen o masa de su cuerpo disminuye; al hacer este proceso teórico suponemos que el animal está compuesto de uno o más compartimentos y se pueden -- variar sus dimensiones.

Esta teoría, debida a Robinson (17), puede ser tomada como cierta, en general, en todos sus aspectos, pero parece que el efecto de la deficiencia en la dieta se contradice con lo expuesto por otros autores (15), (16). Teniendo en cuenta que los insecticidas clorados son lipófilos y se acumulan fundamentalmente en las zonas grasas o lipídicas de un organismo animal, y que cuando se le somete a un pe riodo de dieta lo primero que se moviliza, para suplir la falta de -- principios inmediatos, son las reservas grasas, es de suponer que, al ser reversible el paso efectuado entre sangre + insecticidas \rightleftharpoons grasas + insecticidas, el organismo animal quede, sino afectado de una -- forma irreversible, sí muy dañado, sobre todo, si se tiene en cuenta -- que el modo de acción de estos compuestos es, en general, como modi ficadores de la transmisión nerviosa. Es decir, que en el caso de la muerte de un animal en el que está presente un nivel de residuos, no equivalente a la dosis letal establecida para su especie, no quiere -- significar que fuese producida por el insecticida, si bien el compuesto en sí ha podido tener una acción, sino total, al menos de aceleración de la muerte.

PARTE II

=====

1.- EL CONSUMO DE PLAGUICIDAS EN ESPAÑA Y LA CONTAMINACION DE SU MEDIO AMBIENTE.

No existen estadísticas reales que reflejen el verdadero consumo nacional de plaguicidas, pues cuando se consultan los anuarios estadísticos departamentales se encuentran cifras dispersas no coincidentes. En las estadísticas de importaciones figuran cantidades que - unas veces son productos con sus propias denominaciones y en otros - casos figuran englobados en diversas partidas con nomenclaturas generales de insecticidas, productos fitofarmacéuticos, fitosanitarios, etc. La producción nacional actual es relativamente importante y suficiente para el consumo nacional en los sectores doméstico, agrícola y forestal.

Existen en España cerca de un centenar de fábricas dedicadas a la producción o a la formulación de plaguicidas, siendo estas - últimas las más numerosas, localizadas, las más importantes en Lamico y Baracaldo (Vizcaya), Barcelona, Badalona, Bilbao, Porriño (Pontevedra) y Valencia (18).

La Comisión Asesora de Estudios Técnicos de la Industria - Química Española, cita en su anuario de 1970, que la producción nacional de insecticidas domésticos es de unas 6.500 Tm. anuales y la de plaguicidas agrícolas listos para el uso, supera las 70.000 Tm. Se considera que la producción total en 1969 se ha elevado a unas 77.000

Tm. por un valor de unos 2.700 millones de Pts. Parece evidente - que esta producción global debe referirse a productos terminados, es decir, formulados para su uso. Consideradas las materias primas en - productos base para formulaciones, fueron producidas en 1969, 2.000 Tm. de DDT, 3.100 Tm. de HCH, 150 Tm. de lindano, 100 Tm. de - DTMT, 150 Tm. de maneb, 750 Tm. de zineb, 285 Tm. de sales her_bicidas, 1.000 Tm. de sulfato de cobre (no se incluyen las ventas directamente al usuario), 1.800 Tm. de oxiclورو de cobre (expresado en 57 %), 28.000 Tm. de polvo de azufre y azufre coloidal, - - 25.000 Tm. de aceites compuestos minerales y 30 Tm. de compuestos órgano-mercúricos.

Las importaciones de plaguicidas son de orden creciente en - los últimos años, correspondiendo, en su mayor parte, a Canarias. En - 1968 se han importado 1.234 Tm. en envases de hasta cinco Kg., por un valor de unos 133 millones de Pts. y 7.290 Tm. en envases mayores, por un valor aproximado de 443 millones de Pts. En 1969 se importaron 1.386 Tm. en envases de 5 Kg. por un valor de 174 millones de Pts. y 9.934 Tm. en envases mayores por un valor de 610 millones de Pts. No se especifican tipos de plaguicidas importados, pero en otras partidas se anotan 150 Tm. de endrin, 1.200 Tm. de sevin, 300 Tm. de metasystox y 900 Tm. de malathión.

La producción nacional de plaguicidas puede alcanzar, si se desea, una cifra anual de 250.000 Tm. muy superior al consumo actual. Se considera que el consumo anual es del mismo orden que la - producción que corresponde a cada año. La exportación es generalmente pequeña, siendo la de 1969 de 840 Tm. por un valor de unos - 46 millones de Pts.

Es importante considerar aquí brevemente algunos aspectos de las campañas de tratamiento en la lucha contra las plagas de los principales cultivos y sus zonas. Parece lógico tener en cuenta la parte que corresponde a los plaguicidas órganoclorados, por ser los más persistentes en el medio y, por lo tanto, de mayor significado en la contaminación. Otros grupos de plaguicidas con estructuras correspondientes a esteres de fósforo y a los carbamatos, de consumo relativamente elevado, aportan poco a la contaminación residual.

En cuanto a los insecticidas clorados es conveniente señalar que las grandes campañas de tratamientos anuales vienen determinadas por disposiciones oficiales del Ministerio de Agricultura, — por cuanto se refiere a campañas nacionales para combatir plagas importantes que atacan a grandes cultivos en extensas zonas agrícolas, pero resulta casi imposible poder determinar la extensión e intensidad de los tratamientos particulares y privados que cada agricultor realiza en su propio dominio, si bien puede considerarse que, en su conjunto, debe alcanzar un muy alto nivel de consumo.

Los datos más recientes sobre los tratamientos obligatorios de 1969 (19), indican que fueron ordenadas 473 campañas en todo el territorio nacional, por las que fueron tratadas un total de seis millones de hectáreas aproximadamente, para combatir 108 plagas y enfermedades diferentes. Las cuatro plagas fundamentales contra las que se luchó fueron las siguientes:

- 1.- Contra la langosta (Locustaurus maroccanus), tanto en sus zonas permanentes como en sus áreas de dispersión.

Como insecticida se empleó el HCH al 25 % en tratamientos aéreos y la superficie tratada fué de 254.470 Has. Las provincias donde se efectuaron estos tratamientos son: Albacete, Almería, Badajoz, Ciudad Real, Cáceres y Córdoba.

- 2.- Contra el "prays" del olivo (Prays oleallus), con una mezcla de DDT al 5 % y HCH al 10 % también por tratamiento aéreo.

Las provincias cubiertas fueron: Almería, Badajoz, Cáceres, Ciudad Real, Córdoba, Guadalajara, Jaén, Madrid, Sevilla y Tarragona.

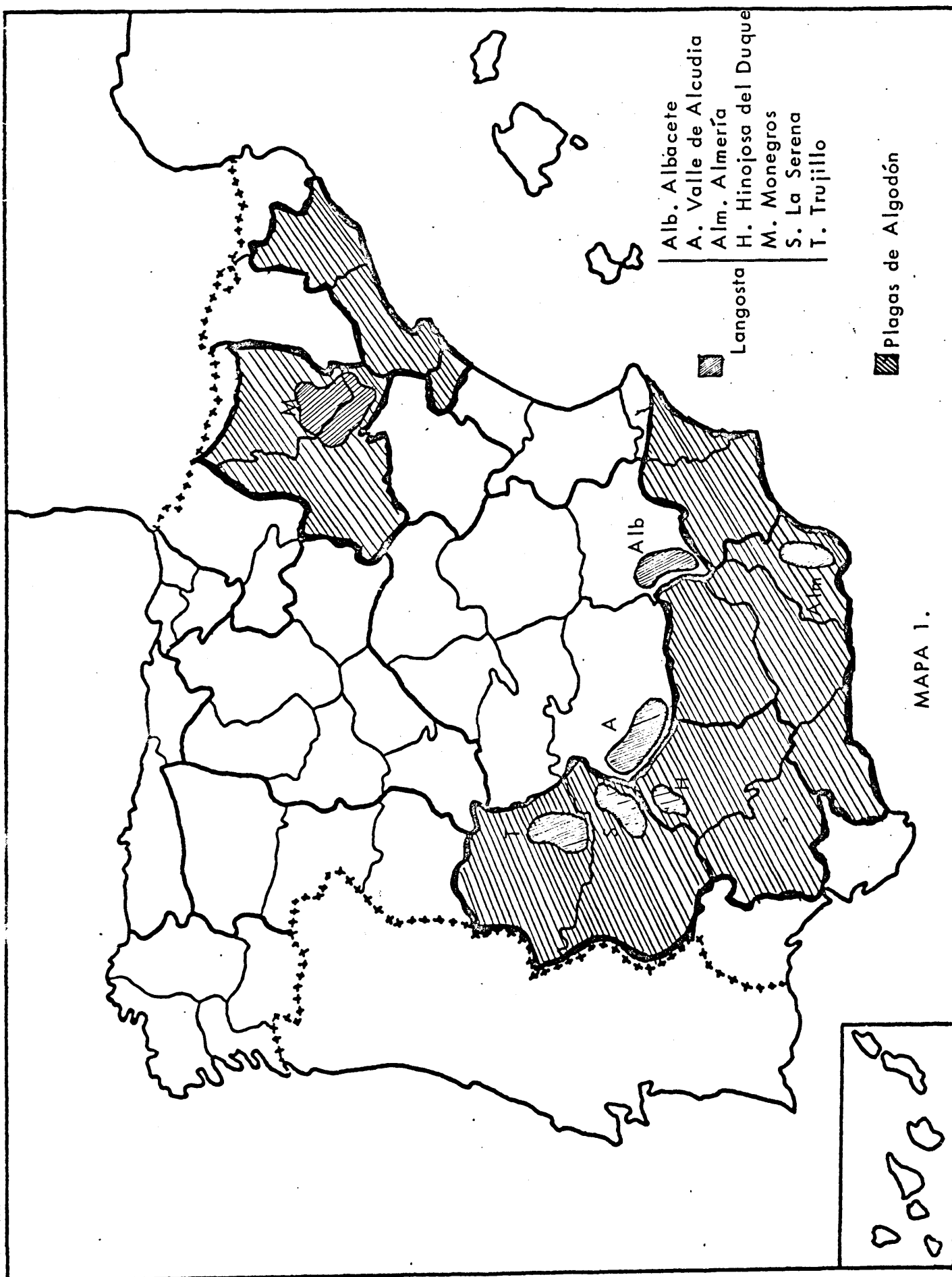
- 3.- Contra el "arañuelo" del olivo (Liothrips oleae), se utilizó DDT al 5 % en tratamientos aéreos, que afectaron las provincias de Almería, Badajoz, Ciudad Real, Córdoba, Gerona, Granada, Jaén, Lérida, Málaga, — Madrid, Sevilla, Tarragona, Teruel y Toledo.

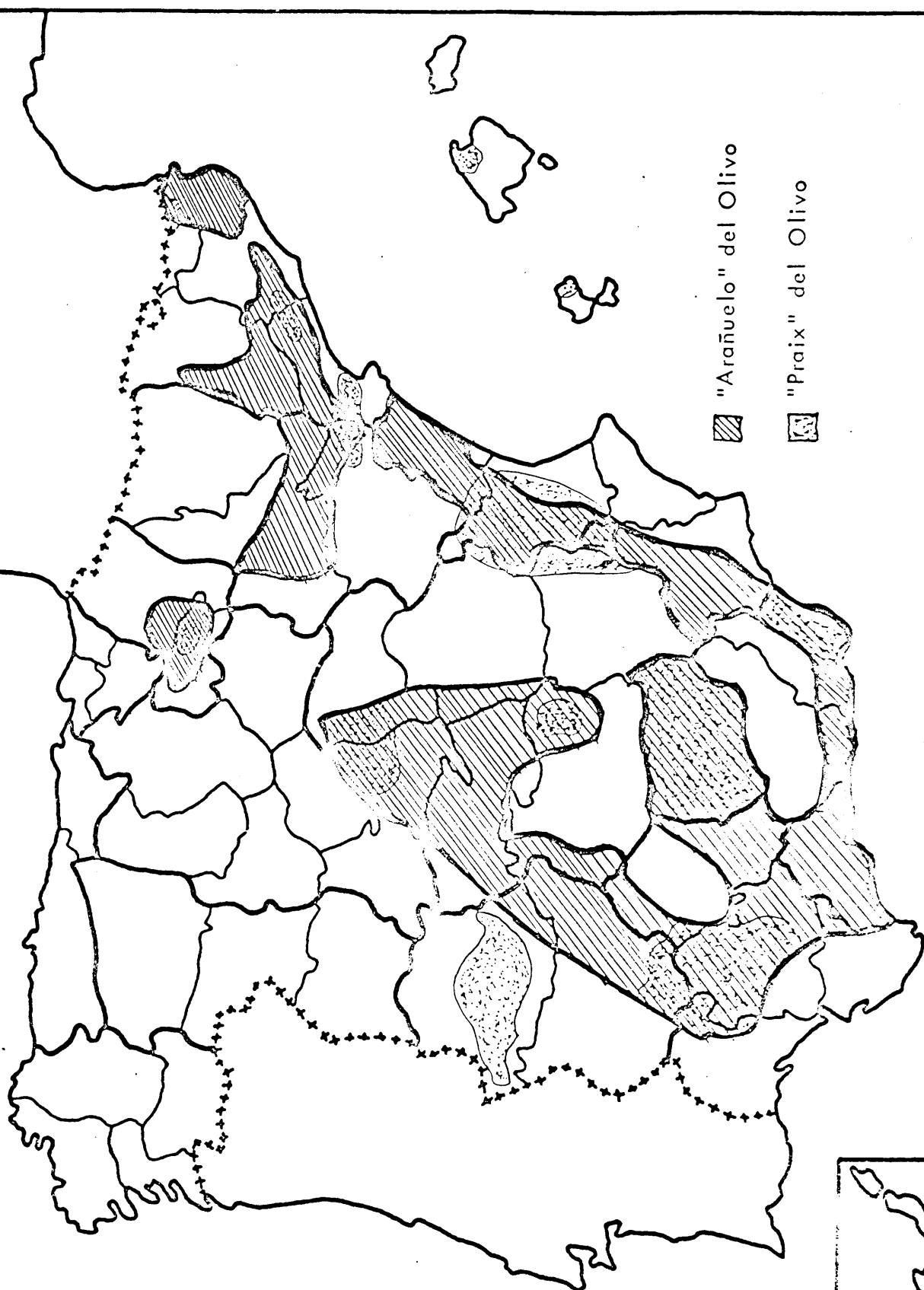
Las superficies tratadas entre las dos plagas del olivo han supuesto una superficie de dos millones de Has. — en 1969.

- 4.- Contra las plagas del algodón (Earias, Eliotis, Platiedra), se suele utilizar endrín. Las provincias donde se han venido tratando estas plagas son: Badajoz, Cáceres, Córdoba, Jaén, Málaga, Murcia y Sevilla. En 1969 se trataron un millón y medio de Has. aproximadamente.

Los mapas adjuntos indican las zonas tratadas para combatir las cuatro plagas más importantes. Es indudable que fueron realizados otros tratamientos, en huertas, jardines y los forestales, pudiendo deducirse que una gran parte de la superficie nacional productiva, está sometida a los tratamientos anuales con plaguicidas, pero no puede predecirse cuales zonas agrícolas son las más expuestas y con tendencia a alcanzar la mayor concentración residual, o, de otro modo, como afectan los niveles residuales a la contaminación del medio ambiente, mientras no se disponga de los datos precisos que conduzcan a su conocimiento.

Indudablemente, las plagas ocasionan unas pérdidas, que en algunos casos pueden ser muy importantes, sobre todo al ser tratadas a nivel regional. Los cálculos realizados sobre pérdidas han permitido evaluar variados coeficientes según zonas agrícolas o tipos de cultivo, y que integrados en el conjunto nacional, resultan coeficientes de reducción comprendidos entre márgenes del 15 al 20 por ciento. Aplicados estos coeficientes a la producción nacional, resultan pérdidas que se sitúan a un nivel de 15.000 millones de Pts. anuales, a tenor del volumen de la producción de estos últimos años. Por otra parte, y como contrapartida, la protección contra plagas permite salvar una considerable producción agrícola nacional, habiéndose evaluado que por cada peseta gastada en los tratamientos con plaguicidas, ha permitido obtener un beneficio medio de 4,75 Pts. Si se considera que el consumo nacional de plaguicidas agrícolas es del mismo orden que la producción, y ésta, en 1969, fué en números redondos de 70.000 Tm., por un valor aproximado a dos mil millones de pesetas, se deduce que el beneficio obtenido por este concepto se acerca a los diez mil millones de pesetas.





Si se aplica el coeficiente americano (20) de 9 dólares de pérdidas por acre (0,4 Ha.) cultivado a la superficie nacional tratada con plaguicidas, se obtienen pérdidas equivalentes aproximadamente a 10.000 millones de Pts. para una superficie de cultivo de unos seis millones de Has. En esta cifra de pérdidas no se incluye la superficie destinada a cultivos menores o de otro tipo específico, por lo que habrá que aumentar unos cinco mil millones más, equivalentes, entonces a 200 millones de dólares, cifra muy inferior a las registradas para Francia e Italia y ligeramente superior a la de Alemania Federal. Estas cifras tienen el apoyo de una base estimativa-teórica, aunque pueden reflejar una situación semejante a la realidad.

Aparte de los programas que vienen realizando los países dentro de los programas internacionales recomendados por la FAO y la OMS, para el estudio de la contaminación de los alimentos y su repercusión en la salud humana, muy poco se ha realizado, hasta ahora, sobre la presencia de residuos de plaguicidas en el medio ambiente y su significado sobre la vida de las especies.

Fué reconocido por los Expertos de la OCDE, que la contaminación del medio ambiente por plaguicidas estaba afectando a todos los países, pero se desconocían los niveles residuales para cada país y su incidencia en el medio ecológico. El descubrimiento de algunos efectos letales reconocidos en Norteamérica fueron el origen de la señal de alerta en los demás países y en las comisiones de especialistas de las organizaciones internacionales.

Algunos países de Europa, sobre todo los escandinavos, iniciaron programas de estudio conducentes al conocimiento de los niveles de contaminación en su propio medio, pero pronto se entendió que estos programas eran de valor limitado mientras no fueran enfocados en un sentido de cooperación internacional.

En nuestra geografía existen zonas agrícolas que están siendo sometidas a muy diferentes tratamientos cualitativos y cuantitativos, y de aquí que su repercusión en la contaminación del medio — debe ser también diferente. Las especies procedentes de zonas de mayor desarrollo agrícola mostraban niveles de contaminación superiores a los encontrados en las mismas especies tomadas en zonas menos desarrolladas. Pudo observarse, también, que la contaminación de los ríos afectaba notoriamente a las zonas costeras próximas a su desembocadura y existen indicios de que esta contaminación costera está creando problemas en la reproducción de algunas especies de peces y moluscos.

PARTE III.

=====

1.-MUESTRAS. ESPECIES UTILIZADAS. DESCRIPCION SOMERA DE
SUS CARACTERISTICAS, HABITAT Y COSTUMBRES.

Con el fin de adaptar el programa de muestreo a los requerimientos propuestos por algunos organismos en proyectos de cooperación internacional para el estudio de la contaminación del medio ambiente por productos tóxicos, se ha procurado elegir aquellas especies más abundantes y comunes dentro de las mismas latitudes -- geográficas, con el propósito de que los datos obtenidos sobre niveles residuales sirvan para contrastar con los encontrados para las mismas especies estudiadas en otras regiones continentales.

La selección de especies se hizo desde un punto de vista -- fundamentalmente ecológico, que fuesen idóneas o indicativas para la evaluación de la contaminación ambiental. Paralelamente, la selección se basó, también, en las características a nivel de especialización de sus hábitos alimenticios y escalón que ocupan en el ecosistema. Por otra parte, la falta de especies idénticas a las reco--mendadas se ha sustituido por otras de hábitos análogos o situadas a un nivel trófico más aproximado.

Se ha intentado elegir zonas de muestreo de contamina--ción improbable, es decir, no se ha muestreado en aquellas localizaciones en las que muy probablemente existían cargas de insecticidas o productos relacionados, debidas a tratamientos intensivos para combatir plagas agrícolas, porque la obtención de datos de especies

que habitan zonas de contaminación elevada y pasajera, tienen poco valor para el estudio de los efectos deletéreos sobre la ecología, si se han de considerar tales efectos a bajos niveles residuales y — como resultado de una dinámica a través de los distintos niveles — tróficos. Se describen a continuación las especies y su procedencia según el medio y localización de éste en la geografía nacional:

- a) Medio marino.— Las especies muestreadas son las siguientes:

Mejillón (Mytilus edulis). Molusco de la clase lamelibranchios, orden filibranchios. Branquias en filamentos — sueltos unidos simplemente por cepillos ciliares o por uniones tisulares, conjuntivas y vasculares a la vez. La charnela carece de dientes.

Se encuentra en todas las costas españolas, y se pueden diferenciar dos tipos: el salvaje, que se cría en las rocas de la costa, y el cultivado, en bateas, y destinado al consumo humano. El tipo de alimentación es microfágico, por filtración de agua de mar por las branquias, — que están dispuestas para esta función, además de la respiración. El planctón y partículas orgánicas suspendidas — en el agua son retenidas por los cilios branquiales que — segregan un mucus y su conjunto es transportado a la boca (21).

Mielga (Squalus achanthias y S. fernandinus-montis). Pez de la clase condrictios, orden selaceos y familia escua-

lidos. Es muy fácil distinguirlo, por ser un tiburón de talla pequeña, que no suele sobrepasar el metro. Carece de aleta anal y tiene un fuerte aguijón en el borde anterior de cada una de las aletas dorsales. El dorso es de color ceniza o pardo, con dos series de manchitas blancas redondeadas o alargadas, una en los flancos y la otra cercana al dorso

Vive en los fondos litorales y costeros, alimentándose de pequeños peces, crustáceos y de otros animales poco activos o de vida sedentaria. Existe en casi todos los mares tropicales y templados, siendo muy abundante muy abundante en nuestras costas. Es una especie vivípara aplacentaria. Efectúa migraciones estacionales en bandadas, no conociéndose el motivo de estos movimientos (22).

Sardina (Sardinia pilchardus). Pez teleosteo, familia de los cupleidos, de cuerpo alargado y comprimido, con el perfil ventral cortante; aleta dorsal más cercana del extremo anterior de la cabeza que del arranque de la aleta caudal; el extremo de la mandíbula superior se encuentra extendido sólo por debajo de la parte media anterior del ojo, la superficie externa del opérculo con un haz de estrías que se dirigen hacia abajo y atrás. Las escamas son muy caedizas y el dorso es azulado o verdoso con flancos plateados. Alcanza una longitud de unos 25 cms.

Es un pez muy corriente en nuestras costas, forma grandes bandadas, viajando de unas regiones a otras y suele per

manecer en alta mar, aunque algunas veces se acerque a la costa. Con frecuencia son atacadas por la mayoría de las aves marinas, así como por bandas de peces pelágicos, tales como atunes y corvinas.

La alimentación es microfágica, filtra el agua a través de las branquias (ctenobranquias), reteniendo en las ctenospinas, una especie de peine muy tupido, las partículas y planctón de que se alimentan. La época de reproducción puede variar con la zona donde se encuentren - pero suele ser desde los primeros días de invierno hasta los últimos de primavera, poniendo una gran cantidad de huevos flotantes (23).

b) Medio fluvial:

Lucio (Esox lucius). Pez teleosteo, de la familia de los cupleidos, con vejiga natatoria fitostoma, estómago en U; carecen de ciegos pilóricos. Es muy característica - la cabeza en forma de pico de pato, de mandíbula inferior más larga que la superior y boca repleta de dientes. Es un pez importado, no existía en nuestras aguas continentales hasta hace pocos años relativamente. Es conocido con el sobrenombre de "tiburón de aguas dulces", de régimen carnívoro totalmente.

Suele alcanzar una talla de hasta dos metros y un peso de unos 30 Kg. Se reproduce entre Diciembre y Marzo. En esta época el macho toma una coloración característica

ca, a base de un verde-amarillo irisado. Pone sus huevos entre las plantas acuáticas (24).

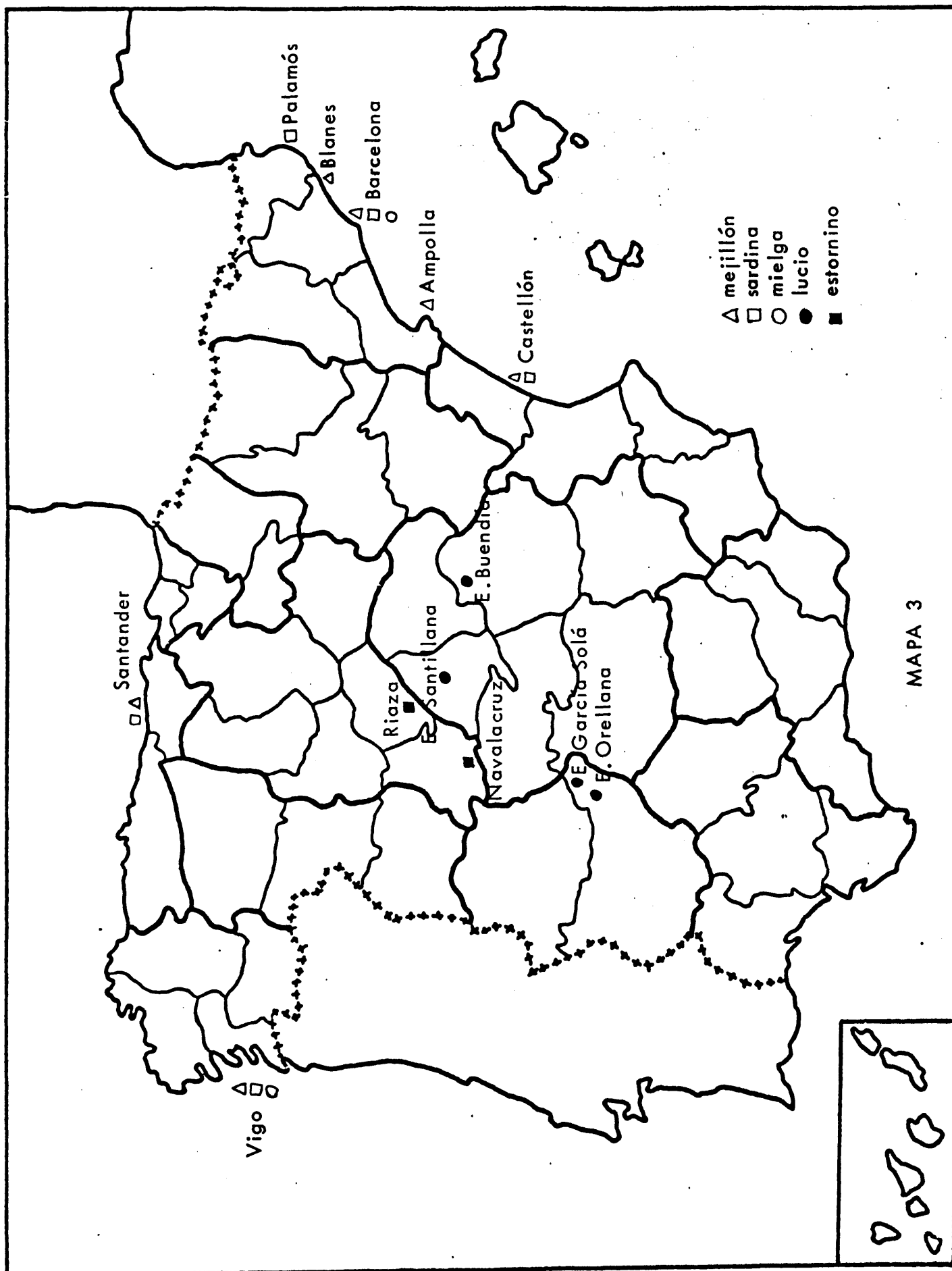
c) Medio terrestre.

Estornino (Sturnus unicolor). Es un ave passeriforme. El macho distingue su plumaje nupcial por el negro con lustre purpura y sin pintas; pico de color amarillo; la hembra es menos lustrosa. En invierno los dos sexos presentan un color negro grisáceo salpicado de unas motas muy pequeñas.

Es un ave muy viva, pendenciera y gárrula, con un vuelo directo y rápido, planea ocasionalmente, cuando come y duerme es gregario. Suele estar en pequeñas colonias sobre acantilados, en poblaciones y aldeas, también en árboles y cortijos, anidando en estos lugares normalmente.

Tiene una alimentación muy variada, desde semillas hasta insectos de todo tipo, así como pequeños reptiles. Es sedentaria en la zona mediterránea, aunque dentro de sus áreas normales efectúa lo que se podría considerar micromigraciones para buscar alimentos fundamentalmente (25).

En el mapa 3 se detallan las localidades donde han sido capturadas las especies antes descritas.



El muestreo del río Llobregat se realizó en dos periodos sucesivos anuales, que coincidieron en primavera, con el fin de obtener datos referibles a las mismas zonas y muestras y otras especialmente elegidas. En el mapa 4, se muestra la cuenca del río Llobregat, los puntos del muestreo y el perfil del río. En la relación siguiente se especifican las muestras tomadas y las localidades de procedencia.

19. Muestreo (Abril 1969).

Gironella (a)

Agua, suelo, lombriz de tierra (Lumbricus sp.), barbo (Barbus barbus) y boga (Chondrostoma polylepis).

Desembocadura del río Cardener (b)

Agua, suelo lombriz de tierra (Lumbricus sp.), sapo (Bufo - bufo), culebra de agua (probable Natrix sp.).

Martorell (c)

Agua y suelo.

Prat de Llobregat (d)

Agua, suelo, lombriz de tierra (Lumbricus sp.).

20. Muestreo (Mayo 1970)

Pobla de Lillet (e)

Agua, sedimentos, río, suelo, lombriz de tierra (Lumbricus sp.).

lagartija (Lacerta sp.), autillo (Otus scops), verdecillo (Serinus serinus), tarabilla común (Saxicola torquata) y ruiseñor común (Luscinia megarhynchus).

Gironella (f)

Agua, sedimentos de río, suelo, lombriz de tierra (Lumbricus sp.), barbo (Barbus barbus).

San Vicente del Castellet (g).

Agua, suelo, carpa (Cyprinus carpio), barbo (Barbus barbus), boga (Chondrostoma polylepis). Estas especies de peces fueron encontradas y recogidas muertas.

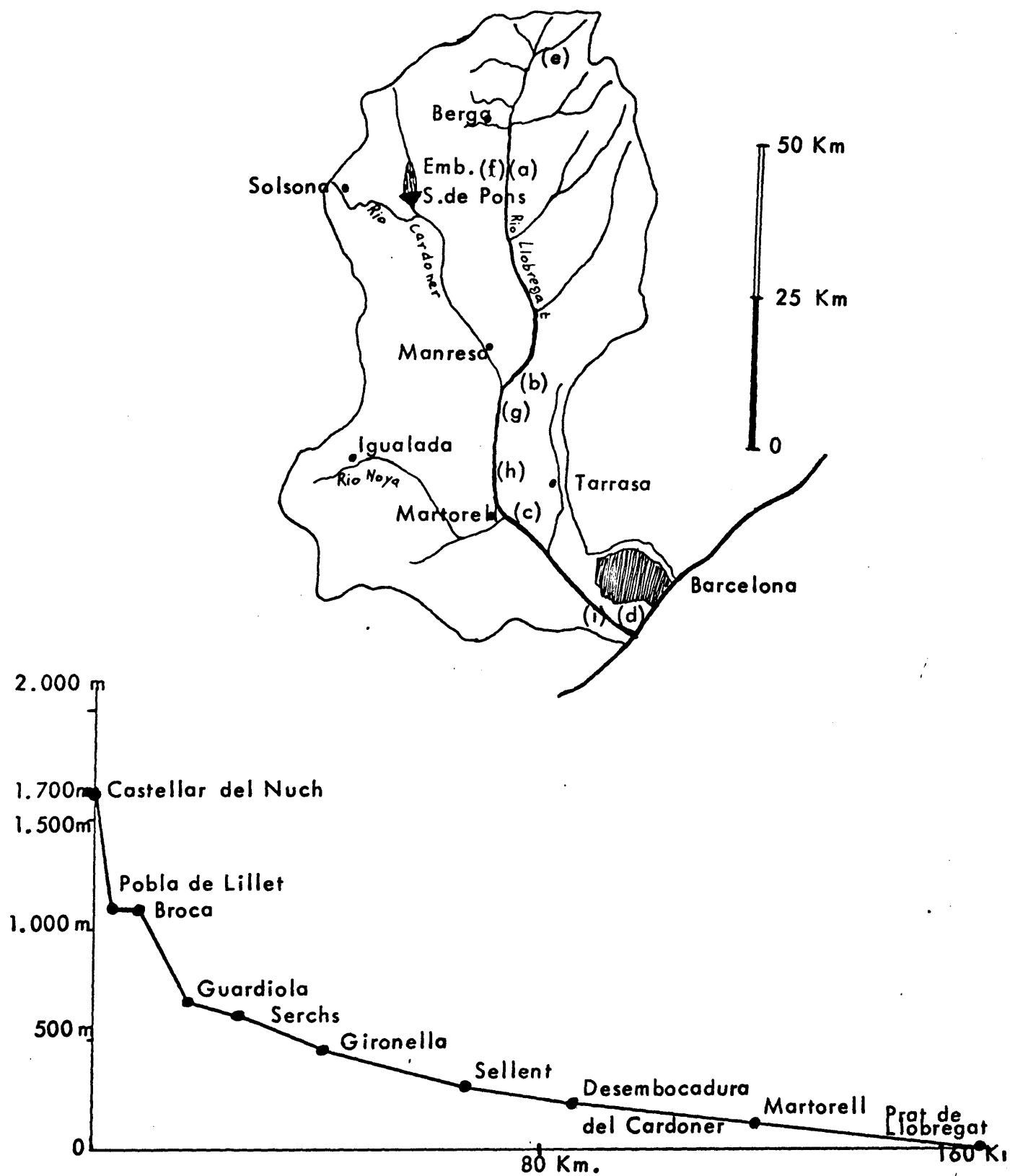
Castelvell y Villar (h).

Agua, sedimentos río, suelo, lombriz de tierra (Lumbricus sp.), barbo (Barbus barbus), se recogieron ejemplares vivos y muertos; se capturó, también, un párajo insectívoro que probablemente fuese una buscarla unicolor (Locustella luscinioides).

Prat de Llobregat (i).

Agua, sedimentos río, suelo, lombriz de tierra (lumbricus sp.), lagartija (Lacerta sp.) y gorrión (Passer domesticus).

Todas las muestras fueron conservadas en estado de congelación.



Mapa 4. Cuenca y perfil del río Llobregat

2.- METODOS DE EXTRACCION DE TEJIDOS Y ORGANOS DE - LAS ESPECIES Y MUESTRAS DESCRITAS.

No existe actualmente una sola secuencia de extracción - que pueda ser aplicada a todo tipo de plaguicidas. Los métodos que se utilizan dependen de la naturaleza química de los plaguicidas - y de los sustratos en que se encuentran. Muchos plaguicidas de naturaleza no iónica como los pertenecientes al grupo de los órgano- clorados y órganofosforados, pueden extraerse de sustratos ácidos o - básicos con disolventes tales como el hexano, mientras que los de na- turaleza iónica, tales como los herbicidas pertenecientes al grupo - de los ácidos benzoico y fenoxialcanoicos, deben extraerse con di- solventes más polares y previa acidificación del sustrato en que se - encuentran.

La metodología usada dentro de cada grupo tiene asimismo, diferencias debidas a las distintas propiedades del sustrato. Es evi- dente que los insecticidas pueden extraerse del agua por un proce- dimiento continuo, pero generalmente se emplea un sólo paso sobre una sola muestra, usando disolventes inmiscibles en el agua. Estos - procedimientos usados con el agua también pueden emplearse para - extraer los mismos insecticidas de líquidos biológicos, tales como la orina, pero teniendo en cuenta tan sólo que durante la extracción de la orina pueden producirse espumas muy estables que molestan el -- proceso de extracción. Por otra parte, la orina contiene pigmentos e impurezas que es necesario eliminar durante los procesos de puri- ficación. La complicación aumenta cuando se pasa a la extracción

de tejidos, por ser necesarios métodos de maceración u homogeneización y realizar la extracción con mezclas de disolventes, uno de los cuales habrá de servir para que el otro penetre todo lo posible en el tejido y verificar la más completa extracción.

Antes de entrar en la descripción de las técnicas seguidas hay que indicar que todos los disolventes utilizados son de extrema pureza, para la cromatografía gas-líquido por captura electrónica.

2.1. EXTRACCION DIRECTA CON HEXANO EN CALIENTE.

El material elegido se pesa en fresco y se tritura en presencia de arena fina, calcinada y lavada al ácido, y sulfato-sódico anhidro, hasta que se convierta en un homogeneizado fácilmente desmenuzable. Se traspasa cuantitativamente a un vaso de precipitados de tamaño adecuado al volumen de disolvente que se va a usar, aproximadamente unas cinco veces mayor que la masa a extraer, se le añade hexano puro, destilado previamente, hasta cubrir el material, y se calienta suavemente hasta ebullición incipiente, al mismo tiempo que se remueve continuamente toda la masa. Esta operación se repite unas cinco veces y los extractos se reúnen para ser sometidos a una concentración final en un evaporador de Kuderna-Danish hasta un volumen de 25 ml. para la operación de reparto en pares de disolventes.

2.2. EXTRACCION EN APARATO SOXHLET.

La preparación de la muestra a extraer es igual a la anterior. El triturado se coloca en un cartucho de celulosa o de vidrio con fondo de placa filtrante para que los líquidos de la extracción pasen al matraz de recuperación.

Los disolventes utilizados han sido: hexano, unos 200 ml. o una mezcla de hexano : acetona (40 : 60), con un volumen igual que el anterior. La extracción se prolonga de 10 a 12 horas y el extracto obtenido se concentra hasta un volumen de 25 ml. en evaporador de Kuderna-Danish.

2.3. EXTRACCION DE SUELOS Y SEDIMENTOS.

En el caso de extracción de suelos y sedimentos se pueden seguir dos métodos: El primero, que es el que se ha usado generalmente, es semejante al 2-2, se quitan todos los elementos que no interesan (piedras, restos vegetales, etc.) y se extraen en el aparato Soxhlet. Los sedimentos se someten a la acción del SO_4Na_2 anh. para quitarle el agua que contiene y se sigue el mismo sistema que en el suelo.

El segundo método consiste en extraer con una mezcla de hexano : isopropanol (67 : 33), utilizando 200 ml. de esta mezcla por cada 100 g. de suelo o sedimento a extraer. Tanto en el primer caso como en éste, se debe obtener el tanto por ciento de humedad que tiene el suelo a extraer, para referir los cálculos sobre materia seca. Se añade la mezcla de disolventes al suelo

y se agitan en un matraz erlemmeyer con boca esmerilada, y bien cerrado se agita durante media hora.

Una vez agitada se filtra a presión reducida sobre un Büchner, al que se le ha colocado papel filtrante Whatman nº 1. El matraz y el Büchner se lavan dos veces con 30 ml. de hexano y se reúnen todos los líquidos filtrados.

Se coloca el extracto en un embudo de decantación de tamaño adecuado y se lava una vez con 100 ml. de agua destilada, a la que se le han añadido 20 ml. de solución saturada de ClNa. Con este lavado se elimina el isopropanol, decantándose el hexano que se concentra en evaporador de Kuderna-Danish hasta un volumen apropiado.

2.4. EXTRACCION DE AGUA.

Como se describía en la introducción a estos métodos el agua es la que menos problemas suele plantear. En nuestro caso, el problema ha consistido en la elección del disolvente o mezcla de ellos para que la extracción fuese más eficaz. Se empezó extrayendo con cloroformo, para lo cual a un litro de agua le correspondían 100 ml. de cloroformo, repartidas en tres veces consecutivas; el cloroformo reunido se evaporó hasta sequedad, ya que no debe inyectarse directamente este disolvente en un detector de captura electrónica y el residuo se recoge en hexano o benceno. Con el cloroformo se obtienen buenas recuperabilidades, pero presenta el problema de su eliminación hasta sequedad (28).

Se utilizó también, hexano en las mismas proporciones - que el cloroformo, pero como es un disolvente apolar, los insecticidas polares (dieldrín, endrín) no son fácilmente disueltos y, por lo tanto recuperados del agua completamente.

El sistema que mejor resultado ha dado, ha sido la extracción con una mezcla de hexano :éter (90 : 10), extrayéndose - - tres veces con la tercera parte del volumen de agua. Se separan las fases y recoge la capa orgánica en un matraz erlenmeyer, que se seca con SO_4Na_2 anh. y se concentra finalmente - hasta un volumen conveniente, para cromatografía gas-líquido o para una posterior purificación.

3.- PURIFICACION DE LOS EXTRACTOS.

La extracción arrastra una serie de productos, además de aquellos que interesan en la determinación por cromatografía gas-líquido con detección por captura electrónica o detección coulombimétrica. Las sustancias acompañantes dan origen a una serie de interferencias que es necesario eliminar. Se impone en cada caso la limpieza o purificación de los extractos, excepto en algunos casos - en que no es necesario hacerla, como ocurre con la extracción de - agua, cuyos extractos pueden emplearse directamente para ser analizados por captura electrónica o microcolumbimetría. Sin embargo, - en las aguas que contienen materia en suspensión o están contaminadas por muchos productos de naturaleza diferente, no sirve la simple extracción y es necesario purificar o fraccionar los extractos antes de inyectarlos en la columna del cromatógrafo.

Los extractos de los tejidos y órganos deben ser sometidos a un proceso de limpieza y purificación mediante procedimientos de reparto en disolventes inmiscibles, uno de los cuales ofrece mayor solubilidad para los productos que interesa separar. A veces una buena técnica de reparto es suficiente para obtener extractos puros, pero generalmente es necesario continuar el proceso de limpieza con técnicas adecuadas de la cromatografía de adsorción sobre un sólido activo, debido a que las impurezas suelen tener un marcado carácter polar y quedan muy ligados al adsorbente, y no eluyen con los disolventes poco polares o apolares. También pueden ser adsorbidas dichas impurezas por una fase líquida polar que impregna un sólido inerte. Los extractos procedentes de muestras grasas o aceitosas es necesario tratarles por técnicas de reparto entre disolventes polares y apolares con el objeto de aislar los plaguicidas de los lípidos. El resto que permanece en el extracto se puede eliminar por adsorción.

Vamos a describir los sistemas empleados en la purificación y fraccionamiento, si el caso lo requiriese, de los extractos obtenidos anteriormente.

3.1. REPARTO EN HEXANO : DIMETILFORMAMIDA.

Este tipo de reparto, utilizado por De Faubert Maunder (26), sigue el protocolo siguiente: El volumen resultante de la concentración indicada anteriormente, se coloca en un embudo de decantación y se extraen con 10 ml. de dimetilformamida pura, destilada previamente, saturada de hexano, para -

lo cual se agita una mezcla de los dos disolventes durante un par de minutos; se deja en reposo y una vez separadas las fases, se vierte la dimetilformamida en el recipiente adecuado para almacenarla. La extracción con 10 ml. de dimetilformamida saturada con hexano se repite dos veces más y las porciones se recogen en otro embudo, lavándose éstos con 10 ml. de hexano saturado de dimetilformamida, con el objeto de eliminar residuos de grasas.

Se separan los 10 ml. de hexano y se lavan a su vez con 10 ml. de dimetilformamida saturada de hexano con el fin de recuperar las posibles trazas de insecticidas que hayan podido pasar en el lavado con dicho hexano. Se separan y se incorporan a los 30 ml. anteriores de dimetilformamida, los cuales se pasan a otro embudo de decantación que contiene 200 ml. de una solución de 2 % de SO_4Na_2 anh. en agua destilada y se agita vigorosamente durante un par de minutos. Se deja reposar para que el hexano que saturaba a la dimetilformamida se separe y pase a ocupar la capa superior lo más nitidamente posible. La capa acuosa se desecha y se recupera la fase de hexano, que se somete a una posterior purificación mediante cromatografía de adsorción.

3.2. REPARTO EN HEXANO :ACETONITRILO.

Este sistema propuesto por el grupo de Onley y Mills (27), es el que más se ha utilizado por su sencillez y mejores rendimientos.

El extracto concentrado a unos 25 ml. se vierte en un embudo de 250 ml. y se le añaden 50 ml. de acetonitrilo saturado de hexano (la saturación se hace igual que para la dimetilformamida). El acetonitrilo se ha redistilado previamente sobre pentóxido de fósforo (7 g./l) y ácido fosfórico (0,5 ml./l.). Se agita durante un tiempo conveniente para cada tipo de extracto y la fracción de acetonitrilo se recoge en un embudo de decantación de 500 ml., que contiene 300 ml. de una solución acuosa del 1 % de ClNa.

Se añaden otras tres fracciones sucesivas de 50 ml. de acetonitrilo saturado de hexano, recogién dose en el embudo de decantación antes citado; cuando están las cuatro fracciones reunidas se le añade 100 ml. de hexano, se agita vigorosamente y se deja reposar hasta separar la fracción de hexano; la parte inferior acuosa se desecha y se repite esta operación dos veces más con 150 ml. de solución acuosa de ClNa al 1 %.

El extracto así preparado se concentra a unos 5 ml. en evaporador de Kuderna - Danish y se somete a una cromatografía de adsorción.

3.3. CROMATOGRAFIA DE ADSORCION EN COLUMNA — DE FLORISIL.

Se prepara una columna con Florisil activado a 652°C. en tubos de 2 x 20 cm., con una altura de Florisil de 10 cm. so-

bre la cual se coloca una capa de 2 cm. de SO_4Na_2 anh.- Se vierte el extracto que se había preparado con los métodos antes citados y se lava el recipiente que lo contenía unas - tres veces con pequeñas porciones de hexano.

La adsorción sobre Florisil tiene la doble misión de limpiar los extractos provenientes del reparto o directamente de la extracción, y conseguir una separación en fracciones de los productos que después se analizarán por cromatografía gas-líquido.

Antes de conocer la existencia de los bifelinos policlorados en los extractos, se utilizaba una única mezcla de los disolventes de hexano:éter (90:10), en un volumen de 200 ml (30).

Un trabajo realizado por Reynolds (31), indicaba la utilidad de dos tipos de eluyentes, basándose en la diferente polaridad de los componentes a fraccionar. Recomendaba eluir primeramente con 100 ml. de hexano por lo que obtenía una primera fracción, en segundo término una posterior elución con 200 ml. de una mezcla de hexano: éter (90:10).

El primer eluyente contenía los bifenilos policlorados, aldrín y p,p'-DDE; el segundo HCH, heptacloro, heptacloro, epóxido, dieldrín, endrín, o,p'-DDT, p,p'-TDE y p,p'-DDT.

Se observó que la recuperabilidad de determinados productos no era aceptable, debido, probablemente, a que la propor-

ción de éter era muy baja y la velocidad de elución muy -- grande, por lo que se probaron nuevas proporciones de la -- mezcla para la segunda elución, ésto dió como resultado -- una nueva proporción de disolventes el éter quedaba aumen-- tado en un 10 %. El primer eluyente permanece inalterable, -- ya que el rendimiento puede considerarse como óptimo.

PARTE IV =====

1. ESTUDIO Y PUESTA A PUNTO DE METODOLOGIAS PARA LA DETECCIÓN Y MEDIDA DE RESIDUOS ORGANOCLORADOS.

La detección identificación y determinación de trazas de plaguicidas y sus productos de transformación química y biológica en los diversos sustratos naturales, ha constituido en los últimos años uno de los avances más sobresalientes de la química microanalítica. El desarrollo del análisis residual puede considerarse que se inicia en el año 1952 cuando James y Martín trataron de aplicar la cromatografía de reparto gas-líquido descubierta por el último de los autores citados. Sin embargo, fué en 1959 cuando Coulson aplicó los procedimientos de la cromatografía de gases a la separación de los plaguicidas.

La detección múltiple y la medida de la gran variedad de los plaguicidas residuales ofrece, sin embargo, serias dificultades debido a las extremadamente bajas concentraciones y a las frecuentes interferencias que se encuentran en los extractos de los tejidos biológicos. Una parte esencial del estudio de los aspectos ecológicos de los insecticidas, es el análisis de especies de la fauna para la evaluación de sus niveles residuales, la exactitud y la reproductibilidad de los resultados.

La concentración de residuos en las especies biológicas suele oscilar entre 0,001 y 100 ppm, si bien muchos de los residuos —

de los plaguicidas órganoclorados están presentes a niveles inferiores a 1 ppm. Pero, además de estos productos existe siempre la posibilidad de la presencia de otros productos sintéticos diferentes -- que deben ser tenidos muy en cuenta. Cabe mencionar a este respecto que algunos autores, tales como Harrison en 1966 (32), Robinson en 1967 (33) y Simmons y Tatton en 1967 (34), encontraron en algunas especies ciertos tipo de residuo halogenados no idénticos a los insecticidas, que luego fueron identificados dentro de una escala de bifenilos policlorados por Widmark (35) y Koeman et al. (36).

La eficacia del método aplicado al análisis residual depende de los factores principales: el primero del rendimiento obtenido en la transferencia del compuesto o compuestos desde el tejido al extracto final, por los procedimientos de extracción y purificación -- por reparto y adsorción que fueron tratados en un capítulo anterior; el segundo depende de la especificidad del método de detección. Si la transferencia de los residuos es incompleta, los resultados -- adolecen de un error sistemático negativo, y si los procedimientos de extracción-purificación y los métodos de detección, ambos combinados, no son completamente específicos, entonces el error sistemático será positivo. Cabe indicar que los procedimientos de reparto en pares de disolventes pueden implicar serios errores y uno de los mayores causantes es la formación de emulsiones en las interfaces. Del mismo modo, la cromatografía de adsorción, como fué tratada en un capítulo precedente, requiere una atención considerable -- para asegurarse de que los residuos presentes son completamente -- eluidos y recogidos en los eluatos apropiados.

2.- CROMATOGRAFIA GAS-LIQUIDO.

La aplicación de esta técnica instrumental a la determinación múltiple de residuos de insecticidas vino a resolver un grave problema que era muy difícil de abordar en la sistemática del análisis residual. El desarrollo de métodos de detección ultrasensible -- ha sido el paso imprescindible para lograr una metodología valiosa en la evaluación de los mínimos niveles residuales en el medio ecológico. Sin embargo, falta todavía una metodología de detección -- específica fácilmente asequible y de técnica práctica, cuyos resultados puedan equipararse a los obtenidos por los detectores de elevada sensibilidad como el de captura de electrones.

Las operaciones unitarias básicas de la cromatografía gas-líquido se circunscriben a las siguientes fundamentales:

Elección del tipo de columna, fase estacionaria y soportes idóneos para aquellos grupos de plaguicidas y sus productos de transformación.

Técnica apropiada para el relleno de la columna según soportes y fases estacionarias usadas. Son normalmente encontradas en las ya numerosas obras dedicadas a la cromatografía de gases.

Temperaturas requeridas para el trabajo eficaz de las columnas y sus límites.

Detector convencional y sus parámetros operacionales, principalmente la aplicación de voltaje óptimo. Reconocimiento del de-

lector, sus faltas y comprobación.

Reconocimiento de las características del amplificador y del registro de señales y utilización de los parámetros óptimos.

Gas portador y selección del flujo para lograr mayor eficacia de la columna y elevada sensibilidad del detector, en relación con las temperaturas de trabajo empleadas.

Material y forma del inyector. Protección contra la degradación de residuos de plaguicidas termolábiles. Inyección directa en la columna.

Registro de cromatogramas. Interpretación cualitativa y cuantitativa. Tiempos de retención absoluta y relativa para identificación de picos, técnicas de calibrado, límites de sensibilidad y orígenes de error.

2.1.- EL DETECTOR DE CAPTURA ELECTRONICA.

Con el fin de no entrar en detalles sobre los procedimientos de la cromatografía de gases, conviene señalar que la metodología general utilizada en la evaluación de los niveles residuales del medio ecológico, está en su mayor parte descrita en las obras editadas por reconocidos especialistas (37), por lo cual sólo van a ser considerados aquellos procesos que más han influido en las técnicas experimentales puestas a punto y que se mencionan en esta memoria.

Se han usado detectores de captura electrónica de tipo --
concentrico y fuentes de radiación de tritio o níquel-63. Los aspectos
teóricos de esta clase de detectores han sido discutidos por Gaston
(38), el cual hace notar las dificultades prácticas que pueden --
encontrarse cuando son usados en el análisis residual. El detector --
de fuente de radiación de tritio tiene la desventaja de que cuando
la temperatura de trabajo excede de los 200º C., pierde rápidamente
material radiactivo y se reduce gradualmente la sensibilidad. --
Por el contrario, la fuente de radiación de níquel-63 aguanta superiores
temperaturas, pudiéndose alcanzar hasta los 350º C. sin pérdida
alguna de actividad. Con ambas fuentes de radiación se alcanzan
fácilmente sensibilidades de hasta 10 picogramos (10^{-11} g.) en
la evaluación de niveles de algunos insecticidas órganoclorados. --
Para alcanzar estas elevadas sensibilidades deben equilibrarse las --
condiciones operatorias hasta su grado óptimo, y en la consecución
de este efecto tienen la mayor importancia el potencial aplicado al
detector, flujo de gas, su naturaleza y la temperatura (39).

Sin embargo, la respuesta del detector de captura electrónica
no es específica para los insecticidas órganoclorados o sus --
productos de transformación, porque otros compuestos muestran elevadas
afinidades electrónicas, y entre éstos pueden citarse toda una
serie de bifenilos policlorados, además de otros compuestos.

En estas circunstancias, la seguridad de los resultados obtenidos
con un detector de captura electrónica, depende, en gran --
parte, del rendimiento alcanzado en la separación de materiales que
acompañan a los residuos de insecticidas contenidos en un extracto

y que van a ser objeto de investigación. Particularmente esta seguridad habrá de estar basada en la eficacia de los procedimientos de purificación de los extractos y el poder de separación de las columnas cromatográficas usadas en la cromatografía gas-líquido, principalmente, por lo que respecta a las fases estacionarias.

2.2.- COLUMNAS CROMATOGRAFICAS.

La resolución de plaguicidas clorados y sus productos de transformación en los extractos de muestras biológicas, requiere el empleo de columnas cromatográficas eficaces para lograr retenciones óptimas y la mínima descomposición térmica de los productos termolábiles. Frecuentemente suele producirse el solapamiento de pares de compuestos con tiempos de retención análogos en un sólo tipo de columna. Entonces hay que recurrir a dos columnas distintas en polaridad o utilizar mezclas binarias de fases estacionarias en una misma columna. Estos solapamientos pueden producirse en pares de insecticidas de polaridad idéntica o, incluso, pueden ser más de dos insecticidas los solapados.

Un método para resolver el solapamiento de dos o más productos es recurrir a una separación previa en cromatografía de adsorción o en su defecto de capa fina, utilizando adsorbentes y sistemas de elución eficaces, pero estos procedimientos previos alargan excesivamente la metodología del análisis de mezclas complejas, por lo que se buscan fases estacionarias o sus mezclas para lograr separaciones finas.

El número de fases estacionarias líquidas que se utilizan en las columnas de cromatografía gas-líquido de compuestos clorados es normalmente muy limitado, porque, de las numerosas fases ensayadas, sólo se eligen aquellas que cumplan la doble misión de obtener separaciones eficaces y la mínima descomposición térmica -- dentro de un único proceso cromatográfico. Es muy frecuente que en las columnas de una sola fase estacionaria se produzca solapamiento de pares de insecticidas, tales como p,p' -DDE/dieldrín y o,p' -DDT/endrín. El endrín, por su parte, se isomeriza fácilmente en las columnas de fases polares y esto supone un grave inconveniente por el significado que tiene el endrín en la contaminación del medio ecológico.

Las fases estacionarias apolares, como los polímeros de polimetilsilicona (SE-30, DC-200, DC-11, SF-96 y OV-1), producen la menor degradación térmica, pero son menos eficaces en la separación de mezclas complejas de insecticidas. Las fases moderadamente polares influyen notoriamente en la descomposición, por lo que son poco utilizadas como fases estacionarias unitarias.

El estudio de la eficacia de mezclas de fases o fases mixtas, fué iniciado en 1964 por McCulley y McKinley (40), y encontraron que una mezcla de 4 % de SE-30 y 6 % de QF-1 (ligeramente polar), daba lugar a columnas de polaridad intermedia de eficacia superior a la obtenida si se utilizasen separadamente. Burke y Holswade en 1966 (41), observaron que una elevada carga de la mezcla de 10 % de DC-200 y 15 % de QF-1 sobre el peso de Gas-

chrom Q, daba lugar a un orden de elución de los insecticidas clorados, diferente al que se observaba en las metilsiliconas apolares. Sin embargo, una nueva fase estacionaria utilizada por Richardson - en 1965 (42), la Oronita polibuteno 128, producía buenas separaciones de pares de insecticidas que suelen eluir conjuntamente. Por - su parte, Henley en 1966, demostraba que la mezcla 7 % de OV-17 (polimetilfenilsilicona) y 9 % de QF-1 daba origen a una elución - de los órganoclorados en un orden diferente a otros establecidos - - (43). Las elevadas cargas de las fases estacionarias, como las men - cionadas arriba, tienen graves inconvenientes algunas veces, sobre - todo cuando se trabaja a temperaturas elevadas, principalmente, por lo que se refiere al sangrado de las columnas.

A pesar de la eficacia demostrada por las columnas muy - cargadas, fué preciso poner a punto otro tipo de columnas con baja dosis de carga, con el fin de evitar el sangrado excesivo y conse - cuentemente aminorar la contaminación del detector. A este respec - to es valioso mencionar que Thompson y colaboradores en 1969 (44) estudiaron una serie de mezclas binarias de fases estacionarias - - (OV-1, SE-30, OV-17 y QF-1) soportadas sobre Chromosorb W o - Gas-Chrom Q, con diferente resultado, pero siempre demostrando - una superior eficacia en la separación de mezclas complejas como - las que pueden encontrarse en los sustratos biológicos.

En nuestro trabajo, previo al estudio de muestras biológi - cas, hemos tratado de conocer el comportamiento de mezclas de fa - ses estacionarias antes de ser usadas en el análisis de extractos de

complejidad desconocida, y cuyos resultados habrían de servir para establecer los factores de seguridad precisos para la determinación de los niveles residuales en tejidos y órganos de especies obtenidas del medio ecológico.

Se prepararon seis columnas con las siguientes fases estacionarias mixtas y simples, expresados sus porcentajes con relación al peso de soporte empleado:

- Columna A - (2,01 % de Oronita de polibuteno 128
(1,5 % de OV-17)
- Columna C - (1,5 % de OV-17
(1,95 % de QF-1 (10.000 cst)
- Columna D - (2,01 % de Oronita polibuteno 128
(1,95 de QF-1 (10.000 cst)
- Columna E - (5,0 % de DC-200 (12.500 cst)
(7,5 % de QF-1 (10.000 cst)
- Columna F - (9,9 % de DC-200 (12.500 cst)

Los pares de fases A, B, C, D, E, fueron soportados sobre Chromosorb W de 80/100 mallas y la fase apolar F sobre Gas-Chrom Q de 60/80 mallas.

Las fases se disuelven en cloruro de metileno o cloroformo, se mezcla con el soporte sólido, se evapora el exceso de disolvente por rotación a vacío y se dejan en una estufa a 130° C. durante unas tres horas para obtener una sequedad óptima. Se rellenan las columnas de la forma usual, taponando los extremos con lana de cuarzo.

Las columnas fueron acondicionadas directamente en el horno del cromatógrafo, conectando un extremo de la columna al bloque de inyección solamente, quedando el otro libre. Se pasa nitrógeno extrapuro y seco y el horno se lleva a una temperatura entre 200-230°C. manteniendo estas condiciones durante cuatro días. Se inyecta luego en las columnas unas cinco o seis veces consecutivas la mezcla madre que ha servido para preparar la mezcla patrón de insecticidas con una concentración de unas cien veces más elevada. Se conecta finalmente el extremo abierto de la columna al detector y se ajustan las temperaturas de trabajo y el caudal de gas.

La mezcla patrón de insecticidas estaba formada por α -HCH, lindano, heptacloro, aldrín, heptacloro epóxido, dieldrín, endrín, o,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-TDE y p,p'-DDT, todos de pureza cromatográfica y en cantidades que oscilan entre los 0,08 ng. y 0,51 ng/l. Paralelamente se disponen patrones individuales de cada uno de los componentes de la mezcla a concentraciones aproximadamente iguales, excepto para el o,p'-DDT y endrín, que están aumentadas.

Se utiliza un cromatógrafo modelo Perkin-Elmer F-11, con detector de captura electrónica y fuente de níquel-63 (electrodo concéntrico). Columnas de vidrio Pyrex en espiral de 1,8 m. de longitud y 3 mm. de diámetro interno. El registrador es Hitachi-Perkin-Elmer, de 2,5 mV. y la velocidad del papel es de 5 mm/min. Se suministra un voltaje óptimo al detector para obtener la máxima inflexión del pico de aldrín.

Las condiciones de trabajo se resumen en las tablas 11 y 14, según el tipo de columna usada. De la mezcla de insecticidas patrón, se calculan las retenciones absolutas y relativas y la sensibilidad expresada en el porcentaje de la inflexión del pico de aldrín con relación al total de la escala del papel. La eficacia de las columnas en platos teóricos se calcula a partir de la retención total y la anchura de la base del pico de p,p' -DDT.

En las tablas 12 y 13, se resumen los resultados obtenidos con las columnas A, C y D. El orden de elución de los últimos términos de la serie de insecticidas y la retención, es variable para cada columna. En muchas columnas clásicas que se mencionan en la bibliografía, análoga a las E y F aquí descritas, suele encontrarse que el p,p' -TDE eluye después del o,p' -DDT y el endrín, pero esto depende de factores en los que están implicadas las polaridades de las columnas y los insecticidas que eluyen.

TABLA 11. Condiciones experimentales (Columnas A, C y D).

Condiciones	Columna A		Columna C			Columna D		
	a	b	c	d	e	f	g	h
Temp. columna (° C).	190	180	170	180	190	170	190	160
Temp. detector (° C)	200	195	195	195	200	195	200	195
Temp. inyector (° C)	210	210	210	210	210	205	210	205
Nitrógeno -- (KN/m ²)	200	170	150	100	100	150	150	200
Platos teóricos (a)	1296	1600	531	1296	784	1243	1076	807

TABLA 11 (Continuación).

Condiciones	Columna A		Columna C			Columna D		
	a	b	c	d	e	f	g	h
Deflexión escala (b)	45	45	42	40	40	75	81	48
Retención aldrín (c)	2,6	4,2	2,5	2,5	2,0	3,5	1,8	3,4

(a) Calculado sobre el p,p'-DDT, según la ecuación: $P = 16 (x/y)^2$, -- siendo x la distancia desde el punto de inyección al centro del pico e y la anchura de la base del pico; (b) en % para 0,7 ng. de aldrín; -- (c) tiempo en minutos.

TABLA 12. Retenciones relativas al aldrín utilizando las columnas y -- condiciones indicadas en la tabla 11.

Insecticidas	Columna A		Columna C			Columna D		
	a	b	c	d	e	f	g	h
α-HCH	0,43	0,42	0,40	0,44	0,45	0,44	0,44	0,45
Lindano	0,57	0,57	0,59	0,56	0,60	0,58	0,61	0,57
Heptacloro	0,77	0,76	0,76	0,74	0,80	0,76	0,77	0,74
Aldrín	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Heptacloro epóxido	1,38	1,42	1,44	1,40	1,40	1,47	1,44	1,62
Dieldrín	2,26	2,40	2,40	2,29	2,20	2,44	2,33	2,56
Endrín 1	3,96	4,28	4,08	3,85	4,20	4,45	3,88	4,91
o,p-DDT	3,88	3,71	4,00	3,55	3,30	3,52	3,55	3,94
p,p'-DDE	2,38	2,61	2,84	2,66	2,45	2,61	2,33	2,85
p,p'-TDE	3,69	4,00	4,32	4,00	3,70	4,00	3,44	4,40
p,p'-DDT	4,76	5,23	6,00	5,33	4,90	5,41	4,55	6,11
Endrín 2 (a)	6,69	7,33	7,03	6,37	5,85	7,52	6,77	8,34

(a) Probablemente un derivado cetónico, producido por degradación térmica del endrín.

A mayor temperatura de las columnas, aumenta el riesgo de la descomposición de los productos termolábiles, por lo que, a primera vista, parece conveniente operar a temperaturas bajas, incrementando el caudal de gas para reducir las retenciones a tiempos convenientes. Sin embargo, suele ocurrir que, al aumentar la corriente gaseosa, disminuye la eficacia de las columnas y la respuesta del detector.

TABLA 13. Descomposiciones relativas (a) en % en las columnas y condiciones indicadas en la tabla 11.

Insecticidas	Columna A		Columna C			Columna D		
	a	b	c	d	e	f	g	h
p,p'-DDT —								
p,p'-DDE	17,3	14,0	tr	-	-	12,6	18,1	5,7
p,p'-DDT —								
p,p'-TDE	8,6	7,0	tr	-	-	4,2	6,0	tr
Endrín 1 —								
Endrín 2	58,2	51,6	42,8	-	-	39,0	40,0	50,4

(a) Obtenidas por relación de áreas totales y parciales.

También tiene un papel importante, en la retención y la eficacia, la carga de fase estacionaria. Con cargas elevadas aumentan las retenciones y disminuyen a medida que la carga es menor. Las cargas de las fases estacionarias de las columnas aquí descritas, están dentro de lo considerado para las columnas de cortos tiempos de retención, excepto para la columna F. Es conveniente anotar, sin embargo, que Burke y Holswade (41), obtienen buenas separaciones y tiempo de retención relativamente cortos con columnas que —

contienen una mezcla de fase formada por 15 % de QF-1 y 10 % de DC-200.

TABLA 14. Condiciones experimentales (columnas E y F)

Condiciones	Columna E				Columna F			
	a	b	c	d	e	f	g	h
Temp. columna (°C)	180	195	200	190	190	190	170	170
Temp. detector (°C)	195	200	210	200	200	200	195	195
Temp. inyector (°C)	205	210	215	210	210	210	200	200
Nitrógeno (ml/min.)	63	63	63	35	61	138	61	138
Platos teóricos (a)	1697	1521	1536	2260	1664	1296	1600	1240
Deflexión escala (b)	20	30	35	30	20	10	-	5
Retención aldrín (c)	11,2	7,1	6,2	11,3	5,8	3,8	11,1	7,2

(a) Calculado sobre el p,p'-DDT, según la ecuación: $P = 16 (x/y)^2$, siendo x la distancia desde el punto de inyección al centro del pico e y la anchura de la base del pico; (b) en % para 0,7 ng. de aldrín; (c) tiempo en minutos.

Suele ocurrir que las columnas con fuerte carga no son muy estables debido a la pérdida de fase cuando se opera a elevadas temperaturas. La columna B, formada por una mezcla de 1,5 % de OV-17 (fase debilmente polar) y 1,95 % de QF-1 (fase polar), sobre Chromosorb W, fué descrita por Thompson y colaboradores (44). Hemos empleado este tipo de columna en condiciones operatorias comprendidas entre los límites de los parámetros anotados en la tabla 11 para las otras columnas usadas. El orden de la elución de los insecticidas y los productos transformados que forman la mezcla patrón es idéntico al indicado por Thompson (loc.cit), y las retenciones relativas son análogas a las tabuladas por este autor, por

TABLA 15. Retenciones relativas al aldrín utilizando las columnas y condiciones indicadas en la tabla 14.

Insecticidas	Columna E				Columna F			
	a	b	c	d	e	f	g	h
α - HCH	0,45	0,47	0,48	0,47	0,34	0,34	0,34	0,33
Lindano	0,58	0,59	0,61	0,60	0,44	0,45	0,42	0,41
Heptacloro	0,81	0,81	0,82	0,81	0,79	0,73	0,78	0,77
Aldrín	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Heptacloro epóxido	1,54	1,50	1,48	1,52	1,24	1,23	1,28	1,27
Dieldrín	2,32	2,29	2,22	2,33	1,86	1,84	2,00	2,00
Endrín 1	2,78	2,57	2,56	2,60	2,10	2,05	2,24	2,25
o,p-DDT	2,78	2,44	2,38	2,47	2,51	2,50	2,88	2,88
p,p'-DDE	2,03	1,90	1,83	1,84	1,86	1,84	2,08	2,08
p,p'-TDE	3,07	2,75	2,66	2,85	2,41	2,36	2,72	2,72
p,p'-DDT	3,67	3,30	3,19	3,41	3,18	3,15	3,71	3,69
Endrín 2 (a)	(b)	6,40	6,25	(b)	3,58	3,63	4,09	4,11

(a) Probablemente un derivado cetónico producido por transformación térmica del endrín, (b) elevada retención y picos muy asimétricos. En las condiciones b y c se detectan otros dos picos con retenciones de 3,53 y 4,11, 3,54 y 4,06, respectivamente, que se han tenido en cuenta en el cálculo de las descomposiciones relativas del endrín.

lo que no se anotan aquí los resultados. Pero es interesante señalar que el endrín desaparece de su sitio de salida y se localiza hacia el final del cromatograma en dos picos de diferente tiempo de retención. Es decir, parece que el endrín se desdobra en dos productos de polaridades diferentes, cuyas retenciones absolutas, para esta mezcla de fases es superior a la mostrada por el p,p'-DDT. Si estos productos tienen una superior polaridad al endrín, deducido de sus retenciones absolutas, puede atribuírseles la presencia en sus moléculas de grupos distintos a los del puente epóxido que caracteriza al endrín.

TABLA 16. Descomposiciones relativas (a) en % en las columnas y condiciones indicadas en la tabla 14.

	Columna E				Columna F			
	a	b	c	d	e	f	g	h
p,p'-DDT — p,p'DDE	15,7	11,0	9,6	14,9	7,5	3,6	tr	tr
p,p'-DDT — p,p'TDE	25,6	21,0	20,6	21,8	14,4	8,1	tr	tr
Endrín 1 — Endrín 2	-	42,0	48,1	-	19,8	15,5	15,4	14,1

(a) Obtenidas por relación de áreas totales y parciales.

Burke y Holswade (41) mencionan las retenciones relativas de tres derivados del endrín, con grupos alcohol, aldehído y cetona, pero no informan si tales productos son desarrollados por un proceso de isomerización térmica en las columnas (45).

Se conoce el mecanismo de la desclorhidración y reducción térmica que sufre el p,p'-DDT para dar p,p'-DDE y p,p'-TDE (46), si bien no suele darse su significado cuantitativo en el análisis cromatográfico rutinario. Por otra parte, es también conocido que tales productos pueden ser originados por la actividad de los sistemas enzimáticos de los seres vivos, y son encontrados como productos de transformación en los extractos purificados que se someten al examen cromatográfico. Es, por lo tanto, de considerable importancia conocer "a priori" si la presencia en los cromatogramas de los picos correspondientes a estos productos secundarios, son debidos a un proceso fisico-químico en las columnas o a una evolución fisiológica antes de extraer un tejido o un órgano.

El orden de la elución y las retenciones absolutas y relativas encontradas con las nuevas mezclas de fases nos ha permitido establecer que, por estar interrelacionadas las descomposiciones -- térmicas con las fases estacionarias y los parámetros operacionales, puede resultar conveniente el empleo de temperaturas más elevadas en las columnas, si el flujo de gas se lleva a una velocidad -- óptima, con el fin de obtener mayor eficacia en la separación de -- pares de productos que suelen eluir juntos y sin disminuir notablemente la respuesta del detector. La separación de o,p'-DDT del endrín se logra en las condiciones a y b de la columna A, anotadas en la tabla 11 (llamamos endrín 1 al endrín intransformado), pero es poco frecuente que el p,p'-TDE tenga una retención intermedia entre aquellos. Lo mismo sucede con las condiciones f y h de la columna D, pero en las condiciones g de esta misma columna, se invierte el orden de salida de o,p'-DDT y p,p'-TDE, de forma que el último sale antes que el o,p'-DDT y el endrín, que no suele ocurrir generalmente.

El o,p'-DDT se separa bien del endrín en las condiciones establecidas para las columnas A y D, pero en las condiciones g de la columna D el diendrín y el p,p'-DDE salen juntos y el o,p'-DDT y el p,p'-TDE eluyen muy cercanos el uno del otro.

Las retenciones absolutas encontradas con la columna C -- son diferentes a las discutidas por Richardson (42), que empleó la -- misma fase sobre un soporte de Celite. El orden de la elución es el mismo, excepto que, en las condiciones c empleadas por nosotros, --

el endrín y el o,p'-DDT eluyen casi juntos y Richardson los separa completamente. Las otras dos condiciones d y e son menos favorables.

La mezcla de fases empleadas en la columna E, fué estudiada por Burke y Holswade (41) y ya se ha hecho clásica en la cromatografía de gases de insecticidas, lo mismo que la fase DC-200, utilizada unitariamente en columnas apolares. Hemos empleado estas fases en proporciones distintas, sobre soportes de Chromosorb W en la columna E, y sobre GaspChrom Q en la F, bajo las condiciones expuestas en la tabla 14. Los resultados se resumen en las tablas 15 y 16. Las retenciones absolutas en ambos tipos de columnas son idóneas para el análisis cuantitativo, si no se tiene en cuenta la ineficacia en la separación de p,p'-DDE / dieldrín de la columna F, lo cual la hace poco útil para el análisis de muestras en las que se sospecha exista dieldrín, excepto si los extractos se someten a un tratamiento químico específico o a una separación previa por cromatografía de adsorción en columna.

La relación comparativa de las descomposiciones térmicas del endrín y p,p'-DDT, nos permite establecer que aquellas son inferiores en la columna apolar F, pero si se tiene en cuenta la eficacia en la separación de mezclas complejas de insecticidas, habrá que recurrir a las mezclas de fases que confieren a las columnas un grado de polaridad conveniente para conseguir retenciones bien escalonadas. Parece evidente que, a medida que aumenta la polaridad de las columnas, se incrementa paralelamente la descomposición de los productos más termolábiles. La intervención del so-

porte en la degradación térmica y en algunas ocasiones en la separación (probablemente debido a que se impregne con mayor facilidad por la fase o más difícilmente), debe tener algún significado, pero hay que considerar que en todos los casos se opera con materiales protegidos superficialmente, lo que les confiere un elevado grado de inercia química. De todos modos, los resultados comparativos parecen demostrar una menor actividad del Gas-Chrom Q.

Consideramos conjuntamente el orden de elución, las retenciones absolutas y relativas, la eficacia en la separación, la respuesta del detector y el grado de descomposición térmica, se deduce que con las columnas D y E se consigue un amplio espectro de diferentes retenciones relativas en las condiciones operatorias señaladas para f y h (tabla 11), y b y c (tabla 14). La aparentemente elevada degradación térmica del endrín habría que transformarla en un valor de la degradación real, con el objeto de introducir un factor de corrección en el cálculo cuantitativo, excepto si se supone que el endrín que puede tener la muestra que se analiza sufre la misma proporción de descomposición que el patrón.

La degradación térmica de p,p'-DDT es menos importante desde el punto de vista cuantitativo, pero conviene considerar que, así como el endrín da lugar a productos de tiempos de retención superiores a los insecticidas de la mezcla patrón, aquí tratada el p,p' DDE y p,p'-TDE, producidos por la degradación se sumarían a los mismos productos que muy probablemente existen en cualquier muestra de historial desconocido, dando lugar a errores si antes no se verifica la magnitud de la degradación térmica e introducen los correspondientes factores de corrección.

Los otros insecticidas órganoclorados de la serie usada, -- no presentan ningún tipo de degradación térmica en cualquiera de las condiciones operatorias establecidas para las fases estacionarias estudiadas por nosotros.

2.3.- GAS PORTADOR.

En la mayor parte del proceso experimental del análisis residual por cromatografía gas-líquido, hemos utilizado el nitrógeno -- en el más alto estado de pureza para la elución de las columnas -- cromatográficas. En algunos casos se ha utilizado una mezcla de argón:metano (95:5). Algunos autores encuentran más conveniente -- dicha mezcla para el detector de captura electrónica, debido a -- que la movilidad de los electrones es superior en esta mezcla si se compara con la encontrada para el nitrógeno. Consecuentemente -- son necesarios más bajos voltajes de polarización del detector. Sin embargo, los efectos del flujo y la temperatura sobre la movilidad iónica son cualitativamente los mismos para ambos tipos de gases.

En la figura 4 se muestra la relación que existe entre el -- flujo de nitrógeno (caudal de gas) y la corriente del detector de -- captura electrónica, según evaluaciones realizadas por Clarck (47). Si se produce un cambio en el caudal de gas, quedará afectada la -- velocidad de los iones en la cámara de ionización, si se tiene en -- cuenta que los iones positivos se mueven en la misma dirección que la corriente gaseosa. De esta forma, un incremento en el caudal de gas reduciría la velocidad de los iones y se alcanzaría la corriente de saturación a un potencial más bajo. Para cada flujo se puede trazar una curva de respuesta mostrando la máxima sensibilidad en --

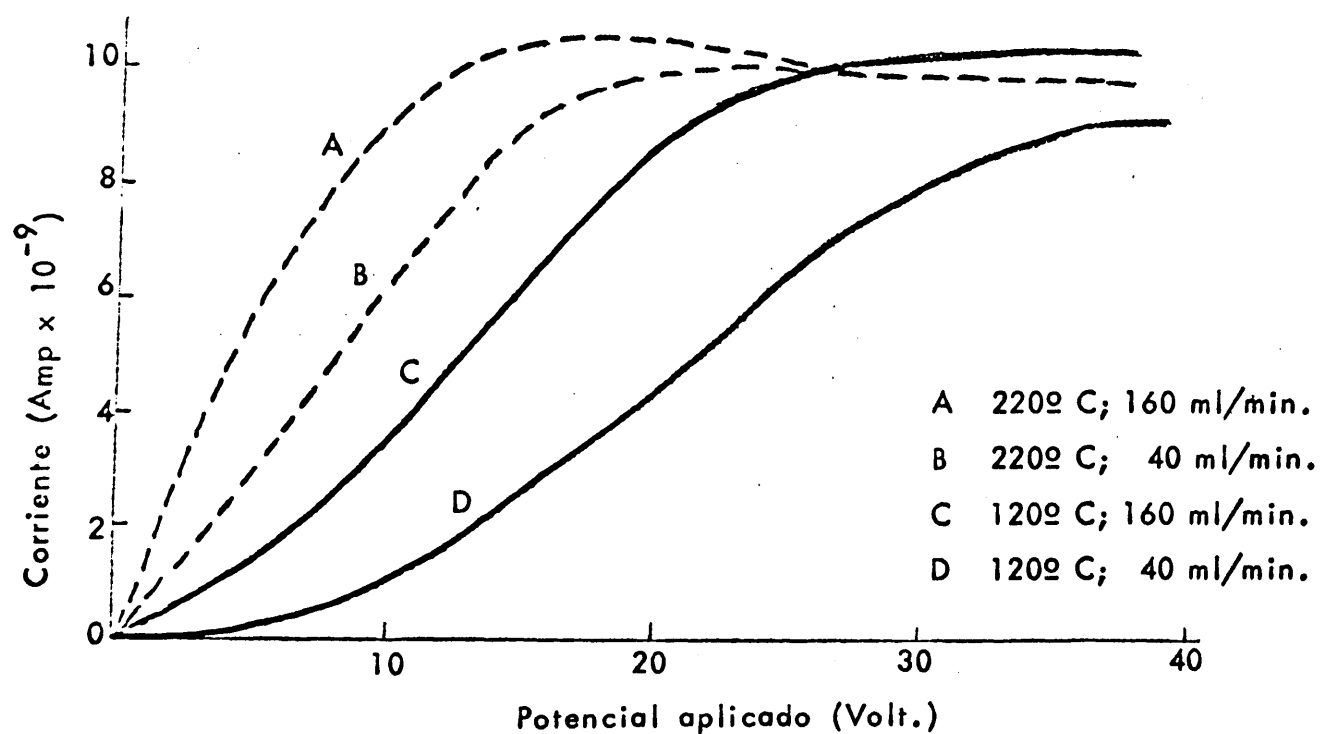


Fig. 4.- Efecto de la temperatura del detector y el flujo de gas (N_2) en la corriente del detector de captura electrónica.

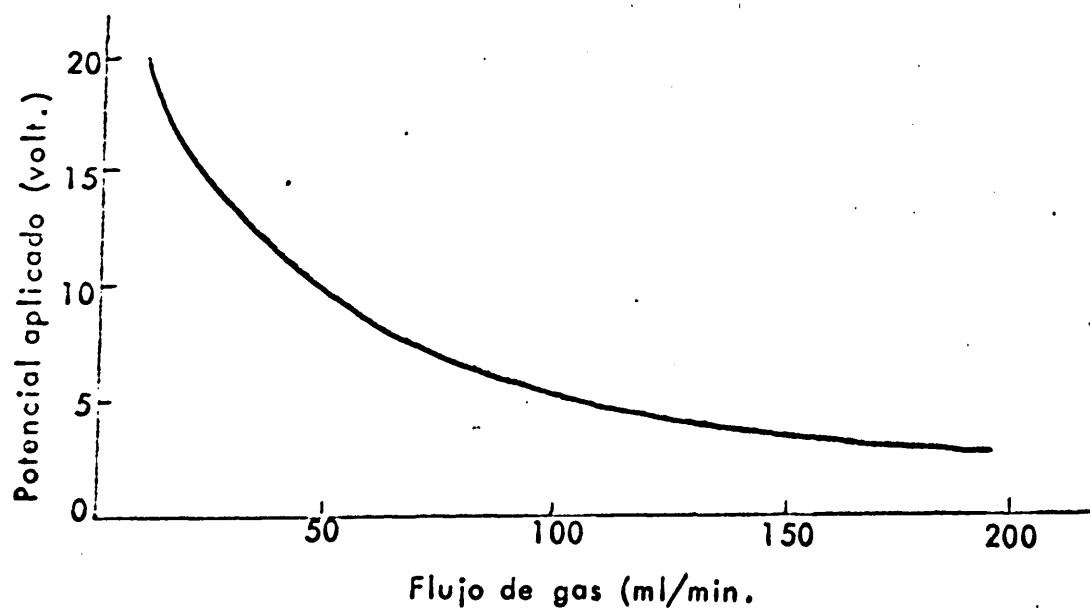


Fig. 5.- Relación entre el flujo de gas y el potencial a una respuesta máxima.

potencial de saturación aproximadamente teórico. En la figura 5, se muestra la relación entre el flujo de gas y el potencial a la máxima respuesta (47). La sensibilidad es constante para un flujo comprendido entre los 25 y 200 ml/min. y siempre produce un mismo valor en la corriente del detector. De este modo, la sensibilidad permanece constante con tal que sea ajustado el voltaje para compensar los cambios que se produzcan en el flujo de gas, si bien, para un trabajo de precisión resulta esencial que áquel sea exactamente controlado.

3.- CONFIRMACION DE LA IDENTIDAD QUIMICA DE LOS RESIDUOS. INTERFERENCIAS.

En las tablas 12 y 15 se muestran las retenciones relativas de una serie de insecticidas clorados y productos de su transformación en varias columnas cromatográficas usadas por nosotros, que nos han servido para identificar los componentes desconocidos que contienen los extractos de muestras biológicas. Resulta evidente que las retenciones absolutas o relativas mostradas por una columna cromatográfica, no son suficientes para poder identificar cualquier residuo de una muestra biológica de historial desconocido. Hasta ahora han sido usadas un número de técnicas para confirmar la identidad química de los componentes residuales. En términos generales puede decirse que la medida de las retenciones relativas obtenidas de dos o tres columnas cromatográficas, daría un conocimiento suficiente para identificar los residuos de una muestra. No obstante, suelen usarse otros métodos complementarios con el fin de alcanzar un más exacto conocimiento de la identidad de los residuos y entre éstos los más usados son la cromatografía en capa fina y reacciones quími-

cas específicas. Otros métodos de gran utilidad son la espectrofotometría IR y la espectrometría de masas, cuando son empleados en microtécnicas de elevada resolución, pero por ello son menos asequibles a muchos laboratorios.

Una de las principales dificultades encontradas en la caracterización de los residuos contenidos en extractos de muestras biológicas, ha sido la presencia de compuestos, en un principio desconocidos, que daban elevada respuesta en el detector de captura. Esta frecuente interferencia era producida por una serie de compuestos de naturaleza órganoclorada que no tenían relación con los plaguicidas de análoga naturaleza.

Otra interferencia menos frecuente, es la que ocasiona el azufre cuando está presente en los sustratos, sobre todo cuando se analizan muestras de suelo y también, si se utilizan disolventes en los que figura el azufre como impureza. Hay que hacer notar que el detector de captura electrónica tiene una elevada sensibilidad para el azufre, el cual suele dar tres picos en los cromatogramas, correspondientes a sus formas alotrópicas. La forma que da lugar al pico principal tiene, normalmente, el mismo tiempo de retención que el aldrín. Otro pico menos acusado, correspondiente a otra forma alotrópica, tiene un tiempo de retención igual al lindano en las columnas QF-1/DC-200. Sin embargo, este último pico no es detectado cuando se trabaja a superiores diluciones de la muestra. Para cerciorarse de la presencia de azufre en una muestra debe recurrirse a las retenciones absolutas que se producen en dos o tres columnas de fases estacionarias mixtas, o utilizar un método de detección coulombimétrico para el que el azufre quede sin respuesta.

Sin embargo, la mayor fuente de error en la interpretación de los cromatogramas suele darse cuando están presentes productos clorados no insecticidas, según quedó mencionada anteriormente. La existencia de tales productos como contaminantes del medio fué alertada a finales de 1966 en una nota publicada en New Scientist (48), por la que se daba a conocer la aparición de picos extraños en los cromatogramas obtenidos de los estudios de contaminación de tejidos animales de vida acuática y terrestre.

Las sustancias que determinaban la aparición de estos picos fueron estudiadas por Jensen y Widmark en Suecia (49), Holmes, Simmons y Tatton en Inglaterra (50) y Koeman y colaboradores en Holanda (51). Fueron caracterizadas como bifenilos policlorados de los cuales puede existir un elevado número de compuestos, según la cantidad de átomos de cloro por cada anillo y de las isomerías moleculares. Estos compuestos suelen ser producidos por la industria para utilizarlos como modificadores o mejoradores técnicos, en lubricantes, resinas, barnices y ceras sintéticas, aislantes, repelentes de agua, también, se han empleado últimamente en formulaciones de insecticidas o plaguicidas en general, debido a que modifican algunas propiedades físicas de las formulaciones. Por su semejanza con el DDT se han utilizado, o se utilizan, como agentes sinérgicos. Por todos estos usos y debido a su elevada estabilidad química, se han difundido ampliamente en el medio y en los seres vivos. Conviene señalar que estos productos industriales figuran con varios nombres en el comercio, como los Clophen ASO de Bayer, Phenochlor DP6 — de Prodelec y Arochlor de Monsanto.

En nuestra serie de trabajos sobre la contaminación del me dio, hemos encontrado interferencias de bifenilos con algunos insec ticidas clorados en los extractos obtenidos de muestras de tejidos - animales procedentes de varias regiones españolas, como se verá -- más adelante. Esto nos ha movido a la realización de un estudio -- más detallado sobre la detección y reconocimiento de los bifenilos - policlorados, que en la bibliografía aparecen señalados con las ini ciales PCB, deducida de la terminología anglosajona.

Se ha utilizado para ello una muestra industrial de Clopenh A50 que contiene una mezcla de bifenilos y cinco componentes de esta mezcla aislados por cromatografía gas-líquido preparativa. Este trabajo fué realizado dentro de un programa de cooperación internacional sobre la contaminación del medio ambiente, coor dinado por la OCDE.

Se emplearon dos cromatógrafos Perkin-Elmer, modelos 21 - y F-11; el primero adaptado para detección por captura electrónica. Se utilizaron dos columnas Pyrex de 1,5 m y 3 mm. de diámetro interno, con las siguientes fases estacionarias:

Columna A - (7,5 % de QF-1 (10.000 cst)
(5,0 % de DC-200 (12.500 cst)

Columna B - (15 % de QF-1 (10.000 cst)
(10 % de DC-200 (12.500 cst)

El soporte empleado ha sido Chromosorb G (AW-DMSC) de 80-100 mallas, en las dos columnas.

Como gases portadores se utilizan para la columna A una mezcla de argón-metano (95:5) a 100 ml/min. y para la columna B nitrógeno puro, al mismo flujo que la anterior. Ambos gases se hacen pasar antes por un tamiz molecular.

Las temperaturas de trabajo utilizadas para ambos inyector y detectores son de 220° y 190° C. respectivamente y 180° C. — para las columnas.

Los tiempos de retención relativos al aldrín están contenidos en la tabla 17. Cada uno de los componentes de la mezcla se — identifica en la tabla con la denominación PCB seguido de un número que determina el orden de salida durante la elución de las columnas. La columna A eluye lentamente, dando lugar a picos anchos, pero — permite situar las pequeñas inflexiones que originan los componentes — PCB-6 y PCB-9, de menor afinidad electrónica en la cámara del detector. Los tiempos de retención en la columna B son cortos, obteniéndose picos agudos, pero no resuelve los anteriormente citados componentes. En cambio se obtienen buenas inflexiones para los componentes de retención más elevada, como los PCB-11 a PCB-14. En la primera columna se anotan las retenciones relativas de los PCB fraccionados previamente por cromatografía preparativa.

Con la columna B y en las condiciones operatorias del cromatógrafo F-11, se logran mayores respuestas, además de configuraciones geométricas más simétricas para el cálculo de las áreas de los picos. Inyectados volúmenes crecientes de la mezcla de los cinco componentes previamente fraccionados, se observa que existe una perfecta proporcionalidad entre las áreas de los picos y las cantidades inyectadas. Si se conocen las concentraciones de cada uno en el volumen que se inyecta, se pueden relacionar sus áreas con aquellas producidas por los mismos componentes que contiene la mezcla industrial de Clop

TABLA 17. Retenciones relativas al aldrín de PCB fraccionado y PCB (Clophen A50).

Picos	PCB fraccionados Columnas A y B	PCB (Clophen A50)	
		Columna A	Columna B
PCB-1	0,89	0,88	0,89
PCB-2	-	1,35	1,35
PCB-3	1,60	1,60	1,58
PCB-4	1,92	1,91	1,91
PCB-5	2,08	2,06	2,05
PCB-6	-	2,35	-
PCB-7	-	2,50	-
PCB-8	-	2,86	2,48
PCB-9	-	3,11	-
PCB-10	3,47	3,45	3,43
PCB-11	-	-	4,09
PCB-12	-	-	4,86
PCB-13	-	-	5,48
PCB-14	-	-	6,59

hen A50 y como existe proporcionalidad, puede tomarse la concentración en nanogramos (ng) por unidad de área, con lo cual se hallan los nanogramos que corresponderían al área delimitada por cada pico de PCB análogo del Clophen A50.

En la tabla 18 se indican los resultados encontrados en los cálculos de picos conocidos y desconocidos. La suma de los compo-

nentes 1, 3, 4, 5 y 10 en la mezcla de Clophen A50 totaliza 5,8 ng/ul (se toma la primera cifra decimal aproximada).

TABLA 18. Componentes de la mezcla de Clophen A50 calculados por relación de áreas.

Picos	PCB fraccionados (a)			Clophen A50, PCB calc. (b)	
	Solución madre (ng/ul)	áreas en cm ²	ng/cm ²	áreas en cm ²	ng/ul
PCB-1	5,15	1,56	2,64	0,30	0,6
PCB-2	-	-	-	1,02	-
PCB-3	5,15	5,91	0,69	3,51	2,0
PCB-(4 + 5)	4,45	8,93	0,49	4,37	1,8
PCB-(6 + 7)	-	-	-	5,60	-
PCB-(8 + 9)	-	-	-	5,65	-
PCB-10	5,25	13,84	0,30	5,70	1,4
PCB-11	-	-	-	1,20	-
PCB-12	-	-	-	0,44	-
PCB-13	-	-	-	0,60	-
PCB-14	-	-	-	0,90	-
TOTALES	21,0	30,24	4,2	15,4 13,88	4,2 5,8

(a) Se inyectan 0,8 ul; (b) se inyectan 1,2 ul.

Por otra parte, sumando las áreas parciales de los cinco — PCB fraccionados, en el supuesto de que existe proporcionalidad entre áreas y volúmenes inyectados, llevando éstos a 1 ul, se obtiene un

área total que comparada con la que se obtiene en los mismos componentes de la mezcla de Clophen A50, llevada también a la unidad de volumen, se obtiene un total de 6,4 ng/ μ l para los mismos cinco componentes que existen en la mezcla citada. La diferencia entre ambas cifras, 6, 4 y 5, 8, en valores absolutos, puede considerarse aceptable dentro de los márgenes admitidos.

Repetidas dos inyecciones no consecutivas de volúmenes iguales de PCB fraccionados y Clophen A50, bajo las mismas condiciones experimentales, se obtienen valores análogos al hacer las mismas relaciones de áreas, como puede observarse en la tabla 18, comprobando que existe reproductividad en los datos experimentales.

TABLA 19. Determinaciones no consecutivas de PCB en Clophen A50, calculados en ng/ μ l.

	Calculados del % (tabla 18)	Determinados			
		1ª	2ª	3ª	Media
PCB-1	0,75	0,6	0,8	0,7	0,7
PCB-3	1,69	2,0	1,9	1,8	1,9
PCB-(4+5)	1,73	1,8	1,9	1,4	1,7
PCB-10	1,16	1,4	1,5	1,2	1,36

La diferencia entre la suma de estos componentes calculados en la tabla 18 y el total de la mezcla, daría la cantidad conjunta del resto de los componentes de la mezcla, calculada en 4,2 ng/ μ l. Los componentes 4 y 5 se toman en conjunto por no conseguirse nunca su elución por separado.

El área total de los 14 picos producidos en la mezcla de Clophen A50 es la que corresponde a los 1,2 μ l inyectados, equivalente a 12 ng. de producto (10 ng/ μ l. en la solución de hexano).

Otro procedimiento de cálculo puede basarse en los porcentajes de los componentes de la mezcla de Clophen A50 (52), determinados a partir del número de cloros que contiene cada componente de PCB (53).

Se deduce que el escrutinio cuantitativo de los componentes de PCB por cromatografía gas-líquido no resulte fácil debido al gran número de compuestos que pueden presentarse. El PCB técnico es obtenido por cloración del bifenilo y existe un número de productos comerciales que contienen un promedio de cinco cloros por molécula. Pero si se emplean técnicas diferentes de fabricación, es presumible que se obtengan mezclas con algunas diferencias en la composición individual y, de aquí, que sea siempre necesario introducir nuevos ajustes en la realización del análisis cuantitativo.

A este respecto, cabe indicar, que las mezclas técnicas -- con la denominación de Clophen se conocen varios tipos, y con el fin de conocer las variaciones que pueden producirse en el análisis de muestras de Clophen de distinto grado de cloración, hemos realizado un estudio comparativo sobre dos muestras de Clophen A50 y Clophen A60.

Hemos prestado atención a las coincidencias que podrían producirse en los tiempos de retención de los componentes de las --

dos mezclas técnicas y los de la serie de insecticidas que se utilizan como patrón, que nos habrían de suministrar datos sobre solapamientos de picos en los cromatogramas y, por lo tanto, las interferencias que podrían producirse en el análisis residual de muestras biológicas.

Solamente se conocía la concentración de los componentes del Clophen A50, que se ha utilizado como patrón para conocer la concentración conjunta de los componentes del Clophen A60.

Las condiciones operatorias fueron las siguientes:

Cromatógrafo Perkin-Elmer, modelo F-11, provisto con detector de captura electrónica con fuente de Ni-63; un voltaje de 2 -- volt. de forma que la respuesta de 1,0 ng. de aldrín fuese del 50 % de deflexión de escala. Nitrógeno como gas portador a un flujo de 63 ml/min. Columna Pyrex de 1,7 m. y 3 mm. de diámetro interno, rellena con la mezcla de fases de 7,6 % de QF-1 (10.000 cst) y 4,5 % de DC-200 (12.500 cst), sobre Chromosorb W de 80/100 mallas. Temperatura del detector 210° C., columna 200° C. e inyector 215° C.

Los resultados encontrados se resumen en la tabla 20. Se observa que fueron detectados 16 componentes, de los cuales 11 tienen los mismos tiempos de retención relativos que otros tantos del Clophen A50. Los picos se numeran entre paréntesis. Las retenciones no son las mismas que en la tabla 17, puesto que las condiciones operatorias varían con respecto a las usadas en este caso, pero existe, de todos modos, una correspondencia de picos en los cromatogramas. Dos

picos de la muestra de Clophen A50 son muy poco marcados y sólo se insinúan como hombros. Lo mismo ocurre en el Clophen A60, existiendo aquí -- otros dos de R_A a 3,80 y 4,48 que sobresalen ligeramente de la línea base. Esto podría atribuirse a que figuran en la mezcla como componentes minoritarios pero que la mezcla de fases usadas es eficaz para separarlos del resto de los componentes.

TABLA 20. Retenciones relativas al aldrín (R_A) de los componentes de PCB de mezclas comerciales de Clophen A50 y Clophen A60 y solapamiento con insecticidas clorados.

Insecticidas		PCB Clophen A50 (patrón)		PCB Clophen A60 (a) (problema)	
α -HCH	0,48				
Lindano	0,61				
Heptacloro	0,83	(1)	0,83	(1)	0,83 (pequeño)
Aldrín	1,00				
		(2)	1,29	(2)	1,29
Heptacloro epóxido	1,51	(3)	1,51	(3)	1,51
p,p'-DDE	1,82	(4)	1,82	(4)	1,80
		(5)	1,96	(5)	2,02
					2,19
Dieldrín	2,25	(6)	2,23 (hombro)	(6)	2,29 (hombro)
o,p'-DDT	2,38	(7)	2,35		
Endrín	2,58				
p,p'-TDE	2,69	(8)	2,64	(8)	2,64
		(9)	2,82 (hombro)	(9)	2,83 (hombro)
		(10)	3,16	(10)	3,16
p,p'-DDT	3,22				3,41
		(11)	3,80	(11)	3,80 (hombro)
					4,03
		(12)	4,48	(12)	4,48
		(13)	4,90	(13)	4,90
		(14)	5,90	(14)	5,90
Endrín	6,25				6,29 (hombro)

(a) Los que no tienen número entre paréntesis son nuevos en esta mezcla técnica).

La determinación cuantitativa de PCB en la mezcla de Clophen A60, se ha realizado de un modo análogo al indicado anteriormente para el Clophen A50. Sólo se ha determinado la cantidad total de componentes por el número de picos detectados en el cromatograma - y usando como patrón de referencia el Clophen A50.

Para ello se han medido y comparado las áreas totales en las que solo estaban implicadas los picos principales de las mezclas patrón y problemas de las mismas condiciones operatorias, y se ha encontrado una media de 8 ng/ μ l. equivalente a 8 ppm.

Estos trabajos fueron realizados dentro de un programa internacional para la puesta a punto de técnicas analíticas y su adecuación a la determinación residual en el medio ambiente, dirigido y coordinado por un comité científico constituido en el seno de la OCDE. Comparados nuestros resultados con los obtenidos por otros laboratorios coordinados con la citada organización, fueron encontrados resultados completamente correctos, pues otros laboratorios encontraron valores comprendidos entre 7,9 y 9 ppm, que, como puede observarse, corresponden muy estrechamente con los nuestros. La identificación cuantitativa ha tenido, también, resultados completamente análogos.

4.- INTERPRETACION DE LOS CROMATOGRAMAS Y DETERMINACION CUANTITATIVA DE RESIDUOS.

Llegado a este punto conviene resaltar que los cromatogramas de los PCB, son muy semejantes a los que se obtienen de la serie más común de insecticidas clorados. Del Clophen A50 (Bayer) se

obtienen 14 picos, correspondientes a 14 productos detectables (50), (52) y (53). Del Phenochlor DP6 (Prodelec) se detectan 13 picos, alguno contiene más de un isómero no separable en las columnas cromatográficas (36) y del Arochlor 1254 (Monsanto) se detectan 16 picos correspondientes a más de 16 productos, algunos de los cuales son -- pares de isómeros (54).

Los medios de que se dispone para diferenciar los picos que aparecen en los cromatogramas gas-líquido están basados en la espectrometría de masas, en el tratamiento químico de las mezclas complejas de los extractos residuales o en la separación por grupos de componentes en cromatografía de adsorción en columna o cromatografía en capa fina. Los procedimientos más asequibles a los laboratorios que no disponen de grandes posibilidades técnicas son los dos últimos.

El tratamiento químico fué propuesto por Jensen y Widmark - (49) y, posteriormente, Reynolds (31) ha sugerido un procedimiento para la separación de PCB en columna de Florisil, indicado ya en el -- apartado III, 3-3.

Reynolds indica que el procedimiento de oxidación sulfoní-- trica de Jensen puede dar origen a derivados nitratos y sulfonados de PCB y de algunos insecticidas en los extractos biológicos, los cuales tendrían mayor capacidad de absorción electrónica en el detector de captura.

En un estudio realizado por nosotros sobre muestras de sardineta (Clupea sprattus), ha permitido demostrar que en los extractos de --

la muestra existían residuos procedentes de PCB. Estos residuos de PCB fueron encontrados en otras especies muestreadas en diferentes regiones y particularmente en especies de vida marina.

En la tabla 20 se mostraron algunos casos en los que se producía el solapamiento de picos de PCB e insecticidas clorados, que dificulta extraordinariamente la determinación residual de los extractos biológicos. Concretamente se habían producido interferencias de PCB-1 con heptacloro, PCB-3 con hepatacloroepósido, PCB-4 con p,p-DDE, PCB-5 con dieldrín, PCB-8 con p,p-TDE y en algunas ocasiones PCB-10 con p,p-DDT. También se había encontrado solapamiento del PCB-16 del Clophen A60 con un isómero del endrín, probablemente un derivado ceto producido por isomerización térmica en la columna cromatográfica.

Estas interferencias no se producen siempre al mismo nivel de PCB y cambian según las fases estacionarias, las temperaturas de trabajo y el flujo de gas. Se hizo notar, también, las diferencias que existían en la composición de las mezclas técnicas de PCB, y de aquí que siempre existía el peligro de la aparición de nuevos picos desconocidos en los cromatogramas obtenidos por cromatografía gas-líquido.

En el estudio realizado por nosotros sobre una muestra de sardina, anteriormente mencionada, se ha tratado de determinar el alcance que podía significar la presencia de tales PCB en la evaluación del nivel residual de insecticidas clorados y productos transformados por acción biológica, con el fin de poner a punto un método -- que nos sirviera para su aplicación a muestras biológicas de historial desconocido. Este trabajo fué realizado en colaboración con otros la-

laboratorios que estudiaron porciones de la misma muestra, dentro de un programa internacional preparado por la OCDE para el estudio de la contaminación del medio ambiente (55).

La muestra de sardineta (*Clupea sprattus*) fué preparada por un laboratorio central situado en el Instituto de Farmacología Veterinaria y Toxicología de la Universidad de Utrecht (Holanda). La especie objeto de estudio fué capturada en Wadden Sea y se tenía conocimiento de que estaba contaminada por residuos de órganoclorados y PCB conjuntamente.

Para la extracción y purificación de residuos de homogeneizados obtenidos de la citada especie, se tomaron 20 g. de cada vez, de forma que estas porciones representaban a 4,2 g. de pez fresco. Se emplearon las técnicas descritas en los apartados III, 2-2; 3-2 y 3-3. Por orden correlativo se ha procedido a la extracción con hexano -- durante seis horas en un aparato Soxhlet o, paralelamente, con pequeños volúmenes de hexano caliente, reparto de los extractos en hexano:acetonitrilo y purificación de los extractos por cromatografía de adsorción sobre Florisil de 60/100 malas activado u óxido de aluminio neutro de actividad 1 Merck. Para la elución de las columnas se empleó una mezcla de hexano:éter (85:15).

El cromatógrafo empleado es un modelo F-11 de Perkin-Elmer con detector de captura electrónica, de fuente de radiación de tritio de electrodo concéntrico.

Las condiciones operatorias fueron las siguientes:

Detector, voltaje aplicado 8 voltios (1 ng. de lindano señala una deflexión en la escala del 30 %).

Columna con mezcla de 15 % QF-1 y 10 % DC-200, sobre Chromosorb G 80/100 mallas. Gas portador: Argón:metano (95:5) a un flujo de 105 ml/min. Temperaturas: columna 190°C. detector 195°C. e inyector 210°C.

Los resultados de la detección y reconocimiento de los picos de los cromatogramas están resumidos en la tabla 21. La purificación final de los extractos del reparto hexano/acetonitrilo por cromatografía de adsorción y elución con hexano:éter (85:15), ha permitido obtener eluatos muy puros de las columnas de óxido de aluminio, pero, cuantitativamente, se producen recuperaciones bajas si se comparan con los eluatos de la columna de Florisil. En estos últimos se detectan claramente el α -HCH, dieldrín, endrín, PCB-1, PCB-5 y PCB-6, que no eluyen de la columna de óxido de aluminio en las condiciones experimentales empleadas, probablemente por estar más fuertemente adsorbidos.

TABLA. 21. Identificación de residuos por los tiempos de retención relativos al aldrín (R_A) en sardineta.

Patrones	R_A	Muestra		Residuos identificados
		(a)	(b)	
α -HCH	0,46		0,47	α -HCH
Lindano	0,58	0,58	0,57	Lindano
			0,90	PCB-1
Aldrín	1,00	1,36	1,34	PCB-2
		1,56	1,57	PCB-3
p,p'-DDE	1,92	1,94	1,95	p,p'-DDE + PCB-4
			2,10	PCB-5
Dieldrín	2,30		2,30	Dieldrín + PCB-6

TABLA 21 (Continuación).

Patrones	R_A	Muestra		Residuos identificados
		(a)	(b)	
Endrín	2,64		2,62	Endrín
p,p'-TDE	2,83	2,83	2,84	p,p-TDE + PCB-8
p,p'-DDT	3,33	3,33	3,34	p,p-DDT + PCB-10

(a) Purificación final en columna de A1203; (b) purificación final en columna de Florisil.

Era necesario confirmar la identidad de los resíduos de insec ticidas encontrados para que la interpretación del cromatograma fuese correcta. Fué mencionado anteriormente que la identidad de los resí duos por las retenciones absolutas o relativas obtenidas de una sola columna cromatográfica, no era suficiente, debido a que productos -- estructuralmente análogos o con polaridades idénticas podían eluir jun tos aunque fuesen compuestos químicos diferentes. Las retenciones re lativas a un componente o a un producto elegido como standard, obté nidas de dos o tres columnas con fases estacionarias de distinta polari dad, son índices suficientes como para determinar la identidad de un compuesto desconocido. Sin embargo, en el capítulo dedicado a la con firmación de la identidad química de los resíduos, se mencionaba que un recurso de gran utilidad para la identificación de resíduos, consis tía en reacciones químicas específicas que debían realizarse sobre ca da uno de los componentes residuales de un extracto.

En nuestro caso de la identificación de los resíduos de insec ticidas de la muestra biológica que ahora nos ocupa, hemos confirma do su identidad química a través de determinadas reacciones que trans cribimos seguidamente.

Los epóxidos ciclodiénicos dieldrín y endrín, fueron confirmados en una parte alícuota del extracto sometida a la acción de un volúmen igual de ácido sulfúrico de 90%, agitando durante cinco minutos a temperatura ambiente. Se separa la fase orgánica, lavando varias veces con agua destilada para eliminar restos ácidos y se seca con SO_4Na_2 anh. Inyectados cinco microlitos en el cromatógrafo, no se detectan los picos correspondientes a los cidos epóxidos, pero sí -- los picos de otros insecticidas y PCB identificados en el primer extracto. Aparece un pico de tiempo de retención análogo al aldrín pero resultó un producto extraño inidentificable.

El aldrín se reconoce en una parte alícuota del extracto -- evaporado hasta sequedad incipiente y el residuo se disuelve en 0,5 ml. de cloroformo añadiéndose 0,1 ml. de solución del 0,3 % de cloroformo. Se deja en reposo durante cinco minutos, se evapora el disolvente y el residuo se redissuelve en 1 ml. de hexano. Inyectada -- una parte alícuota, se observa la desaparición del pico de aldrín. Esto es debido a que dicho compuesto adiciona dos átomos de cloro para saturar uno de sus dobles enlaces, para formar un dicloruro de configuración trans. El pico correspondiente a este nuevo compuesto no coincide con el primitivo aldrín, por tener un tiempo de retención diferente. Es de significar que el doble enlace etilénico del p,p'-DDE no adiciona en las condiciones experimentales aquí empleadas.

El lindano, p,p'-TDE y p,p'-DDT fueron reconocidos por tratamiento alcalino de la manera siguiente: Una parte alícuota del extracto se trata a 300 C. durante unos minutos con una solución acuosa de sosa a pH 8. Se separa la fase orgánica, se lava varias veces --

con agua y se seca con SO_4Na_2 anh. El p,p'-TDE y p,p'-DDT son convertidos en sus correspondientes derivados etilénicos por pérdida de una molécula de ClH . Se da el caso que al convertirse el p,p'-DDT en su derivado etilénico p,p'-DDE, el pico original correspondiente a este derivado, existente en el extracto primitivo, aumenta considerablemente por el nuevo aporte suministrado por la transformación química. El lindano da lugar a derivados insaturados por pérdida de una o más moléculas de ClH , identificables por sus picos correspondientes en los comatogramas, de menores tiempos de retención que el lindano original. Con este tratamiento permanecen inalterados el aldrín, dieldrín y PCB.

La determinación cuantitativa de los residuos se ha realizado una vez confirmada su identidad química. Si no existiesen interferencias por PCB, la cuantitativa podría hacerse sobre los residuos de insecticidas y sus productos de transformación solamente, por técnicas comparativas sobre los patrones de concentración perfectamente conocida. Como esto no sucede en el extracto que estamos estudiando, como suele ocurrir en la mayoría de las muestras biológicas, es necesario proceder de forma diferente, de manera que se comienza con los componentes de PCB presentes en la muestra.

Para ello, una parte alícuota del extracto de volumen perfectamente conocido, se evapora hasta casi sequedad mediante una corriente de aire seco y el residuo se trata con una mezcla 1:1 de ácido sulfúrico y nítrico concentrados, durante cinco minutos a 0°C . Se añade hielo triturado, se extrae con hexano y se separa la capa orgánica, que se lava varias veces con agua destilada y, finalmente, se -

seca con SO_4Na_2 anh. Todas estas operaciones se realizan de forma - que todo el proceso sea cuantitativo. Se lleva a volumen exacto con nuevo aporte de hexano y se inyectan parte alícuotas en el cromatógrafo.

Se obtiene cromatogramas con picos inalterados correspondientes al α -HCH, lindano y fracciones de PCB. El resto de los picos de los demás insecticidas desaparecen de su posición original al transformarse en compuestos nitrados de gran tiempo de retención.

TABLA 22. PCB encontrados en la muestra de sardinetas.

Solución patrón de Clophen A50	R_A	Identificados en muestra (R_A)	Calculados en muestra (ppm)	Total de PCB calculado - (ppm)
PCB-1	0,89	0,88	0,21	
PCB-2	1,34			
PCB-3	1,56	1,54	0,08	
PCB-4	1,85	1,88		
PCB-5	2,02	2,05	0,07	
PCB-6	2,26	2,29		
PCB-7	2,44	2,42		
PCB-8	2,81	2,78		
PCB-9	2,95	3,04		
PCB-10	3,34	3,33	0,10	0,65

En los cromatogramas se calculan las áreas de los picos de - PCB y se relacionan con aquellas obtenidas de soluciones patrón de - concentración perfectamente conocida. En la tabla 22, se muestran -- las retenciones relativas al aldrín (R_A) de los PCB encontrados, las - de la solución empleada para la identificación y las estimaciones cuanu

titativas en la muestra de sardineta sobre la base de su peso fresco. La cantidad de PCB, se calcula sobre el patrón de PCB fraccionado, compuesto por cinco componentes solamente.

A título de ejemplo se muestra la figura 6, que consiste en una serie de cromatogramas correspondientes a insecticidas clorados y PCB que fueron sometidos al tratamiento con mezcla nitrosulfúrica. El cromatograma A corresponde a una mezcla de insecticidas y PCB tal como eluyen de la columna cromatográfica. El B, corresponde a la misma mezcla, pero sin lindano, que fué sometida al tratamiento nitrosulfúrico. El cromatograma C es el obtenido de una muestra patrón de Clophen A50 y el D corresponde a la misma de insecticidas que la A, pero sin PCB despues de haber sido sometida al tratamiento.

Este procedimiento para la determinación cuantitativa de -- PCB en una muestra desconocida, parece correcto, considerados los -- márgenes que se admiten en las determinaciones residuales de muestras biológicas. Esto fué confirmado por los resultados encontrados en laboratorios de otros países que han participado en el programa internacional antes reseñado, y que han estudiado porciones análogas de la misma muestra. Tres laboratorios de Holanda encontraron valores -- de PCB que oscilaban entre 0,57 y 0,80 ppm, dos laboratorios de -- EE.UU. dieron valores entre 0,5 y 0,8 ppm. Otros laboratorios identificaron los PCB pero fueron incapaces de determinarlos cuantitativamente.

Los resultados cuantitativos de la contaminación total de la muestra que estamos estudiando, se determinan sobre aquellos elua--

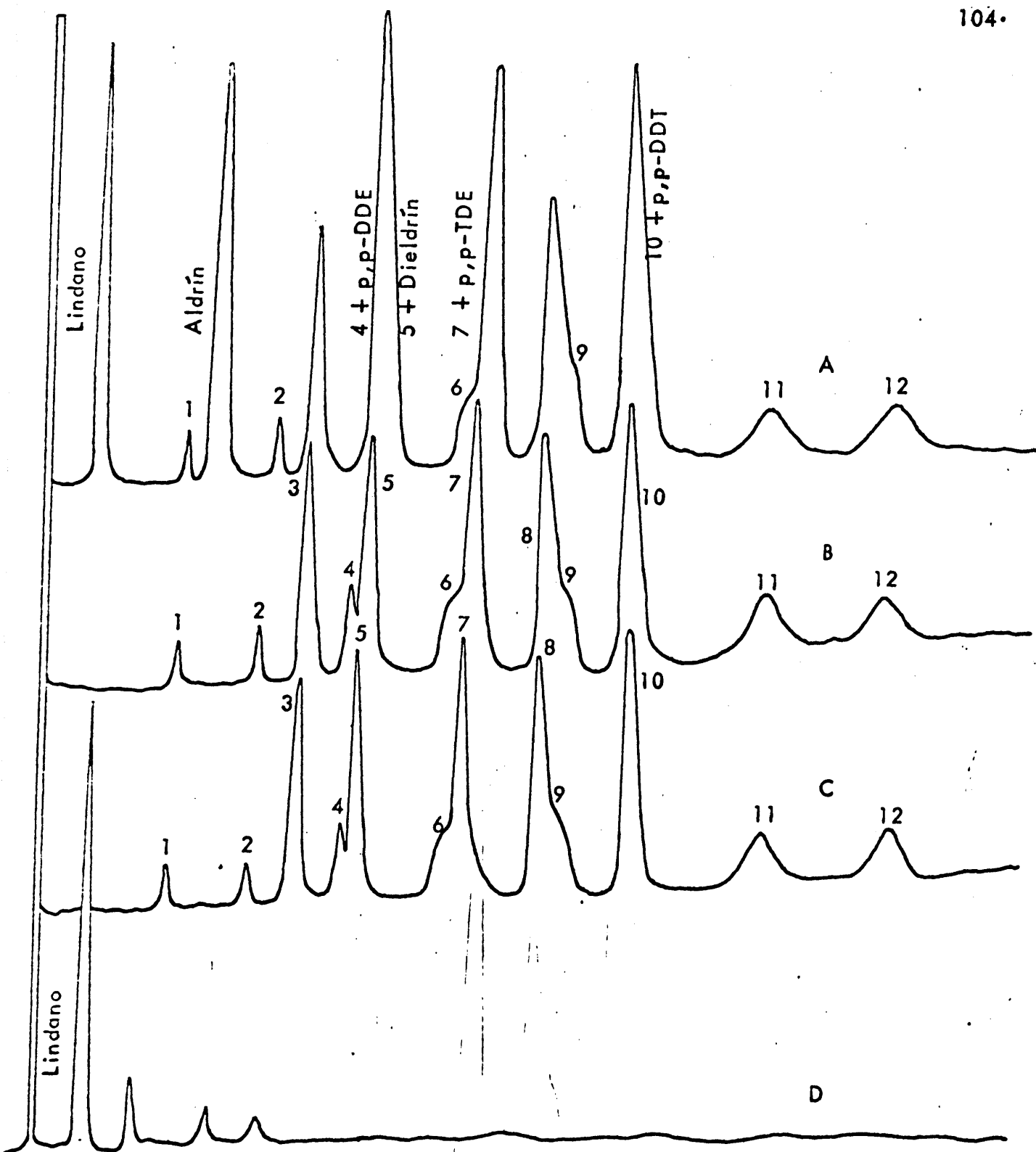


Fig. 6.- Cromatogramas de mezclas de insecticidas clorados y PCB antes y después de ser sometidos a tratamientos nitro-sulfúrico

tos en los que la recuperabilidad haya sido máxima, comprendido todo el proceso, desde la extracción hasta la cromatografía de adsorción en columna. Como hay una serie de picos de insecticidas y PCB que se solapan (tabla 20), deben ser descontadas las aportaciones — hechas por los insecticidas. De forma que previamente se miden, después se tratan con mezcla nitrosulfúrica y se vuelven a medir, la diferencia será el insecticida y la segunda medida el PCB. En la tabla 23, se anotan los resultados medios obtenidos de tres determinaciones consecutivas, excepto para el endrín, cuyo pico resultó muy asimétrico.

TABLA 23. Resultados de la determinación cuantitativa de los residuos identificados en la sardineta.

Resíduos identificados	Contenido en ppm (a)
α -HCH	0,098
Lindano	0,022
Dieldrín	0,024
Endrín	detectado
p,p'-DDE	0,025
p,p'-TDE	0,043
p,p'-DDT	0,110
PCB	0,650
(a) Referido a producto fresco.	

También se ha procedido a una muestra obtenida de cormorán (Phalacrocorax carbo), encontrado muerto en una región de Holanda en 1970. La muestra fué preparada en el Instituto de Farmacología Veterinaria de la Universidad de Utrecht.

Después de los conocimientos alcanzados en el estudio previamente comentado, hemos operado sobre un homogenizado de la muestra que representaba un peso de 3,03 g. de tejido fresco, que - fué extraído en Soxhlet con una mezcla de hexano:acetona (40:60), como se ha indicado en el experimento antes mencionado. El volumen del extracto fué llevado a 250 ml. con más aporte de hexano y tomadas porciones de 25 ml. para las operaciones de reparto en pares de disolventes y cromatografía de adsorción en columna. Cada porción de 25 ml. representaba 0,303 g. de tejido fresco de cormoran.

Una porción del extracto fué sometida a reparto cuatro veces en acetonitrilo (volúmenes de 50 ml.), saturado previamente con hexano, y las fracciones reunidas fueron incorporadas a 150 ml. de una solución acuosa de 1 % de ClNa . Se añadió más hexano a la solución acuosa, se agitó y después de separar la capa orgánica, se lavó dos veces con porciones de solución acuosa de 1 % de ClNa . La fase de hexano separada, se secó con SO_4Na_2 anh. y, después de concentrar a 5 ml., se hizo pasar a través de una columna de Florisil. La columna se ha eluido en dos pasos sucesivos con porciones de 100 ml. de hexano y 200 ml. de hexano:éter (80:20). Los dos eluatos se recogieron separadamente y fueron concentrados a un volumen útil para cromatografía gas-líquido.

La otra porción de 25 ml. del extracto original no fué repartida en el par de disolventes, sino que, después de concentrada a 5 ml., fué pasada directamente por la columna de Florisil y eluida ésta como se ha indicado anteriormente.

El objeto de proceder así en la cromatografía de adsorción en columna, fué con la finalidad de intentar fraccionar los componentes residuales del extracto original en dos eluatos y evitar todo lo posible el solapamiento de picos en los cromatogramas obtenidos de la cromatografía gas-líquido. Existía para este intento un antecedente debido a Reynolds (31) que había tratado de separar los PCB de los insecticidas clorados.

Las condiciones operatorias de la cromatografía gas-líquido fueron análogas a las citadas para el análisis de la muestra anterior, excepto que las fases estacionarias fueron soportadas por Varaport 30 de 80/100 mallas. Las temperaturas empleadas fueron: columna 190°C, detector 205°C. Flujo de nitrógeno 67 ml/min.

Los cuatro eluatos obtenidos de las dos columnas dieron cromatogramas muy característicos que demostraban la existencia de insecticidas clorados y PCB, pero con una diferencia muy notoria en los niveles residuales de ambos tipos de compuestos, por lo que hubo que recurrir al empleo de diluciones de distinto grado para obtener inflexiones de picos convenientes.

Se ha encontrado que en el primer eluato de hexano existía aldrín, p,p'-DDE y PCB y en el segundo, estaban contenidos el lindano, dieldrín, p,p'-TDE y p,p'-DDT. Se había conseguido de este modo la separación de los componentes residuales en dos fracciones distintas, con la ventaja de que los cromatogramas mostraban menor solapamiento de picos, por lo que la identificación y determinación cuantitativa de residuos se había facilitado considerablemente. Por -

otra parte, quedaba disminuidas las posibilidades de error por el hecho de haber repartido los residuos en dos fracciones distintas. Los PCB podían solaparse solamente con el aldrín con el p,p'-DDE, pero el resto de los insecticidas quedaban libres de las interferencias molestas de los PCB.

Del mismo modo, los residuos de los insecticidas y los PCB fueron identificados y determinados por sus tiempos de retención relativos y por el método de oxidación con la mezcla nitrosulfúrica en las mismas condiciones que las expuestas anteriormente. En la tabla 24 se resumen los resultados encontrados. Se observa que el nivel — de PCB es muy superior a cualquiera de los residuos de insecticidas.

Del α -HCH, aldrín y 4,4'-diclorobenzofenona, sólo se detectan trazas, que no permiten su cálculo. Quedó mencionada la existencia de picos de los que no se posee patrones standard y hay que guiarse por tablas establecidas por otros autores, en este caso se encontró uno con un R_A de 0,42, que no se ha intentado identificar, pero parece ser que se trata de hexaclorobenceno. Su nivel residual era significativo.

TABLA 24. Residuos encontrados en tejido de cormorán, expresados — sobre peso de tejido fresco.

Detectados	ppm
α -HCH	detectado
Lindano	0,3
Aldrín	detectado
Dieldrín	1,4
4,4'-diclorobenzofenona	detectado

TABLA 24. (Continuación)

Detectados	ppm
p,p'-DDE	9,3
p,p'-TDE	2,7
p,p'-DDT	0,3
PCB	320,0

Comparados nuestros resultados con los encontrados por otros laboratorios que han participado en este programa internacional de cooperación, pertenecientes a países miembros de la OCDE, se observa una estrecha correspondencia, dado que nuestros valores estaban situados en el término medio de los márgenes admitidos. El supuesto hexaclorobenceno de R_A 0,42, se encontraba, en efecto, presente en el tejido de cormoran.

Es del mayor interés destacar finalmente, el rendimiento de los procedimientos de extracción y purificación de residuos obtenidos de una muestra biológica, porque no se pueden fijar niveles residuales si antes no se tiene el conocimiento de la capacidad del método que se emplea. Para ello vamos a prestar atención a la muestra de sardineta, que fué tratada anteriormente y cuyos resultados se muestran en la tabla 23.

Se llevaron a cabo experiencias de extracción de porciones de homogeneizado al que se le añadieron cantidades conocidas de insecticidas. Se procedió añadiendo a porciones de 10 g. de muestra una solución bencénica patrón que contenía cantidades pesadas de lindano, aldrín, dieldrín, p,p'-DDE y p,p'-DDT, por ser estos -

insecticidas, partes residuales muy representativas de las muestras biológicas contaminadas. Después de volver a homogeneizar, se repitió el método de extracción y purificación del extracto en las mismas condiciones que las empleadas con la muestra original. En la tabla 25, se resumen los resultados obtenidos con el método de extracción con hexano, reparto en hexano:actonitrilo y cromatografía de adsorción sobre Florisil.

TABLA 25. Recuperación de residuos de insecticidas de la muestra de sardineta.

Insecticidas	Encontrados (ppm) (a)	Añadidos (ppm)(a)	Recuperados (ppm) (a)	Extracción %
α -HCH	0,098			
Lindano	0,022	0,05	0,059-0,072	82-100
Aldrín		0,05	0,042-0,045	84- 90
Dieldrín	0,024	0,05	0,080	100
p,p'-DDE	0,025	0,05	0,080	100
p,p'-TDE	0,043			
p,p'-DDT	0,110	0,05	0,112-0,144	70- 90

(a) Referidos a productos fresco.

El rendimiento de la extracción no es inferior, en los mejores casos, al 90 %, pero ocurre, también, que por deficiencias observadas en el empleo del método, el rendimiento de la extracción puede reducirse al 82 % encontrado para el lindano y el 84 % para el aldrín. Se observa que para el p,p-DDT se obtiene el límite inferior situado en el 70 %, pero esto puede ser debido a una descomposición térmica producida en la columna cromatográfica. La adsorción desor-

ción de una columna de óxido de aluminio para la purificación de residuos, dió lugar a rendimientos más bajos, por lo que no se utilizan para cálculos cuantitativos. De todos modos, del rendimiento -- medio de la extracción y purificación debe hallarse el factor de -- multiplicación que habrá de servir para expresar los residuos encontrados, en niveles de contaminación lo más aproximadamente cercanos a los reales.

PARTE V.

=====

1. RESULTADOS OBTENIDOS DE LAS ESPECIES Y MUESTRAS DESCRITAS.

En este apartado vamos a entrar en la descripción de los parámetros que caracterizan a los ejemplares o grupos a los que se ha sometido a las pruebas analíticas para hallar las cantidades — de residuos de insecticidas y análogos órganoclorados que contenían. En los apartados III y IV se han descrito estas técnicas y pruebas en forma más completa.

Los resultados, en ppm, sobre la base de peso fresco extraído, así como los parámetros biológicos (longitud, peso, edad y -- sexo principalmente) tabulados, se introducirán mediante una breve -- descripción de la metodología usada en la extracción, purificación y análisis cualitativo y cuantitativo, de los cuales sólo haremos una -- referencia numérica.

El orden a seguir, será el que parece más lógico y natural, dado que donde se encuentran fundamentalmente estos productos es en suelos agrícolas, de donde pasarán mediante procesos ex-- puestos anteriormente (ver pág.11) a los rios y demás cursos fluviales hasta su desembocadura en el mar. Dentro de cada medio se seguirá un orden cronológico.

1.1. MEDIO TERRESTRE.

Vamos a referirnos a los estorninos, tanto común como pinto (*Sturnus unicolor* y *S. vulgaris*), pues su diferenciación específica no es muy fácil, ya que en invierno las dos especies son materialmente indiferenciables.

Nava de la Cruz (Avila)

Fecha de captura: 20-IV-1966.

Se capturan 28 aves, cazadas con escopeta, distribuyéndose en tres grupos: un primer grupo de cinco machos y cinco hembras, un segundo grupo de diez machos y el tercer grupo de cinco machos y tres hembras. Obteniéndose de cada ejemplar 10 g. de músculo de vuelo, extrayéndose por tanto 100 g. de los dos primeros grupos y 80 g. del tercero.

La extracción se efectúa con hexano en caliente (III-2.1), reparto entre hexano:dimetilformamida (III-3.1), con ulterior purificación por cromatografía de adsorción en columna de Florisil, empleando como eluyente 200 ml. de hexano:éter (85:15) (III-3.3).

Los análisis por cromatografía gas-líquido se hicieron en un aparato Perkin-Elmer, modelo F-7.

Columna rellena con 0,2% de GE-SE-52 sobre bolas de vidrio DMSC de 80/100 mallas.

Temperatura de la columna: 180º, del detector: 180º C. y del inyector: 215º C.

Detector de captura electrónica, con electrodo concéntrico y fuente de tritio a 20 voltios.

Flujo de Argón:metano (95:5) a 42 ml/min.

TABLA 26. Contaminantes en ppm hallados en los estorninos de Nava de la Cruz (Avila).

	α -HCH	Lindano	Dieldrín	p,p ¹ DDE	p,p ¹ DDT
1er. grupo (5 machos 5 hembras)	0,04	0,32	0,04	0,06	0,10
2º grupo (10 machos)	0,02	0,12	0,04	0,14	0,04
3er. grupo (5 machos 3 hembras)	0,02	0,14	0,04	0,14	0,08

Riaza (Segovia).

Fecha de captura: 20-1-1968

En este caso se hicieron cuatro grupos de cinco ejemplares cada uno, y además se analizaron nueve ejemplares individualmente.

En la tabla 27 se indica el sexo, así como los pesos del individuo entero con plumas; en el caso de los grupos se hace una media de los pesos.

Se tomaron 10 g. de músculo pectoral, de forma que en los grupos se contabilizan 50 g.

En los grupos la extracción se hizo con hexano en aparato - Soxhlet (III-2.2), para los ejemplares individuales se empleó - directamente hexano caliente (III-2.1). El reparto entre disolventes fué con hexano:acetonitrilo (III-3.2), y la última fase - purificación en columna de Florisil con 200 ml. de hexano:éter - (85:15) como eluyente (III-3.3).

El análisis por comatografía gas-líquido (CGL) se efectuó - en un Perkin-Elmer modelo F-21 modificado.

Columna con mezcla de fases compuesta por 7,5 % de QF-1 (10.000 cst.) y 5 % de DC-200 cst.) sobre Chromosorb G (AW-DMSC) de 80/100 mallas; en un tubo de vidrio Pyrex de 1,5 m. y 3 mm. d.i.

Detector de captura electrónica, con electrodo concéntrico y fuente de tritio.

Gas portador: Argón:metano (95:5) a un flujo de 100 ml/min. Registrador Siemens de 2,5 mV. con una velocidad de registro de 6 mm/min.

Temperatura de la columna: 180º C, del detector: 190º C. y del inyector: 220º C.

TABLA 27.- Contaminantes en ppm. encontrados en los estorninos de Rianza (Segovia).

	Peso (g)	α -HCH	Lindano	Aldrín	Diel- drín.	p,p' ¹ DDE	p,p' ¹ TDE	p,p' ¹ DDT
1er. grupo (4 machos 1 hembra)	96,4	0,21	0,025	0,046	<0,001	0,03	0,06	0,86
2º grupo (4 machos 1 hembra)	96,9	0,11	0,015	<0,001	<0,001	0,03	0,08	<0,005
3er. grupo (5 machos)	87,8	0,14	0,030	-	<0,001	0,08	0,09	0,054
4º grupo (5 machos)	87,7	<0,0001	0,050	<0,001	<0,001	0,14	0,06	0,047
1er. ejemp.	99,0	0,08	0,030	0,001	0,014	0,04	0,04	0,085
2º "	86,5	<0,0001	0,100	0,020	0,020	0,06	0,06	0,110
3º "	96,1	0,13	0,040	0,006	0,020	0,02	0,08	0,150
4º "	98,1	<0,0001	0,030	0,034	0,010	0,04	0,05	0,130
5º "	88,5	<0,0001	0,017	0,002	0,012	0,05	0,06	0,066
6º "	83,5	0,14	0,050	-	<0,001	0,03	0,03	0,055
7º "	93,5	0,06	0,035	<0,001	<0,001	0,02	0,01	0,018
8º "	97,2	0,08	0,015	<0,001	<0,001	0,01	0,01	0,016
9º "	96,7	0,01	0,028	<0,001	<0,001	0,03	0,02	0,030

Todos los ejemplares individuales son machos. Los PCB se encuentran presentes pero no están calculados.

1.2. MEDIO FLUVIAL.

Este medio está representado por el lucio (*Esox lucius*), pez - que parece ser el más indicado, por sus costumbres carnívoras - (ver pág. 46).

Pantano de Santillana (Madrid)

Fecha de captura: 26 - XII - 1967.

Se capturaron dos ejemplares, de los que se extrajo 100 g. - de músculo lateral respectivamente. Además se obtuvo hígado, - riñón y branquias.

Tanto los 100 g. de músculo como los órganos se extrajeron con hexano en aparato Soxhlet (III-2.2). El reparto se hizo en - hexano:acetonitrilo (III-3.2) y la adsorción en columna de Florisil con 200 ml. de hexano:éter (85:15) (III-3.3).

CGL: en un Perkin-Elmer modelo F-21 modificado, con detector de captura electrónica de electrodo concéntrico y fuente de tritio.

Gas portador: Argón:metano (95:5) a 42 ml/min. Registrador Siemens de 2,5 mV. y velocidad de la carta: 6 mm/min.

Temperaturas: columna a 180º C., detector a 180º C., e - inyector a 215º C.

Para los extractos de órganos se emplea un modelo F-11 de - Perkin-Elmer, con detector de captura electrónica, con electro--

do concéntrico y fuente de tritio. La columna de vidrio Pyrex rellena con una mezcla de 7,5 % de QF-1 (10.000 cst.) y 5 % de DC-200 (12.500 cst.) sobre Chromosorb W 60/80 mallas.

Gas portador: Nitrógeno a 100 ml/min. Registrador: Hitachi-Perkin de 2,5 mV. con una velocidad de 5 mm/min.

Temperatura de la columna: 190°C y del inyector: 210°C.

TABLA 28.- Parámetros y contaminantes en ppm del músculo lateral y órganos de los lucios de Santillana (Madrid).

	α -HCH	Lindano	Aldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT
1er. ejem. macho, 2- años, 42,5 cm, 730 g. mús cullo	0,01	0,045	0,003	0,02	0,02	<0,005
2º ejem. macho, 2 años, 54 cm. 1198g. mús cullo	0,014	0,06	0,001	0,03	0,08	0,02
Organos - hígado, de los -- do, dos ejem- riñón, plares jun bran- tos quia	0,036 0,061 0,040	0,027 0,050 0,023	0,045 0,024 0,008	0,40 0,11 0,18	0,06 0,16 0,14	0,30 0,12 0,10

El o,p'-DDT se encuentran en forma de trazas en el hígado, el hexa--clorobenceno se detecta en todas las muestras. Los PCB se encuentran presentes, pero no calculado. El Dieldrín está en todas las muestras en forma de trazas ($T < 0,001$).

Pantano de Buendía (Cuenca).

Fecha de captura: 21 - 11 - 1968.

Se capturó un sólo ejemplar, del que se obtuvo 100 g. de músculo lateral, así como hígado, riñón y branquias.

El músculo se extrajo con hexano en aparato Soxhlet (III-2.2). Los órganos lo fueron con hexano en caliente (III-2.1). La purificación en conjunto fué como el caso anterior (métodos III-3.2 y III-3.3).

Las condiciones para CGL así como los aparatos coinciden exactamente con los utilizados en el caso del Pantano de Santillana.

TABLA 29.- Parámetros y contaminantes en ppm para el lucio del Pantano de Buendía (Cuenca).

		α -HCH	Linda-	Aldrín	p,p'-	p,p'-	p,p'-
			no.		DDE	TDE	DDT
macho 3 --	músculo	0,02	0,005	0,001	0,09	0,03	0,03
años, 66,5	hígado	0,011	0,003	0,008	0,21	0,10	0,08
cm. 2098g.	riñón	0,033	0,230	0,050	0,35	0,40	0,70
	branquias	0,010	0,006	0,010	0,11	0,06	0,06

El Dieldrín se encuentra en forma de trazas en todas las muestras.--
Los PCB se encuentran presentes, pero no calculados.

Pantano de García Solá (Badajoz). 1er. muestreo.

Fecha de captura: 20 - III - 1968.

Fueron dos ejemplares los capturados en este pantano y que fueron sometidos a idénticas manipulaciones; es decir, se tomaron -- 100 g. de músculo lateral, hígado, riñón y branquias.

Las extracciones se hicieron con hexano en caliente (III-2.1). Los repartos entre disolventes con hexano:acetonitrilo (III-3.2), y cromatografía de adsorción en columna de Florisil con 200 ml. de hexano:éter (85:15) como eluyente (III-3.3).

Para los análisis por CGL se utilizaron las mismas condiciones operatorias y tipo de aparatos que en los dos casos anteriores.

TABLA 30.- Parámetros y contaminantes en ppm. hallados en los lucios del Pantano de García Solá (Badajoz). 1er. muestreo.

		α -HCH	Linda- no.	Aldrín	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT
1er. ejemp. hembra, 4 años, 78,5 cm. 4650 g.	músculo	0,07	0,11	0,014	0,84	0,50	<0,005
2º ejemp. macho 2-3 años 60,5 cm. 1760 g.	músculo	0,034	0,02	0,020	0,80	0,13	0,037

../..

TABLA 30.- (Continuación).

		α -HCH	Linda- no.	Aldrín	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT.
Organos de los dos ejemplos juntos.	Hígado	0,020	0,011	0,040	1,08	0,13	0,14
	riñón	0,027	0,015	0,05	2,50	0,16	0,11
	branquias	0,018	0,009	<0,001	0,12	0,06	0,07

El Dieldrín está en forma de trazas en los músculos, riñón y branquias.
Los PCB se encuentran presentes, pero no se han calculado.

Pantano de García Solá (Badajoz). 2º muestreo.

Fecha de captura: 7-III-1970.

Corresponden a un segundo muestreo, en el que se capturaron dos ejemplares. El proceso de toma de muestras fué semejante al anterior, la única variación se debe a que en vez de tomar branquias se toman gónadas, tanto masculinas como femeninas.

La extracción se hizo con hexano:acetona (40:60) en aparato Soxhlet, el reparto en hexano:acetonitrilo y la adsorción en columna de Florisil, utilizando dos eluyentes: 1º de 100 ml. de hexano y 2º de 200 ml. de hexano:éter (90:10) (III-2.2, 3.2 y 3.3).

CGL: Perkin-Elmer, F-11 con detector de captura electrónica, de electrodo concéntrico y fuente de Ni-63.

La columna de vidrio Pyrex, convencional, rellena de una mezcla de 7,5 % de QF-1 (10.000 cst.) y 5 % de DC-200 (12.500-

cst.) sobre Varaport 30 de 80/100 mallas. Registrador Hitachi de 2,5 mV. y 5 mm/mín. de velocidad del papel. El gas portador: Nitrógeno a un flujo - de 67 ml/min.

Temperaturas: columna a 190°C, detector a 205°C. e inyector a - 220°C.

TABLA 31.- Contaminantes en ppm y parámetros de los lucios del Pantano de - García de Solá (Badajoz). 2º muestreo.

		α -HCH	Linda	Hepta	Aldrín	Diel-	p,p'-	p,p'-	p,p'-	PCB
		no.	no.	cloro.		drín	DDE	TDE	DDT	
1º ejem.	músculo	0,09	0,006	0,08	0,04	0,003	0,45	0,002	0,01	0,13
hembra	hígado	0,09	0,005	0,09	0,001	0,004	4,20	0,84	0,008	1,27
2-3 años	riñón	0,09	0,005	0,08	0,02	0,003	0,46	0,12	0,18	1,92
48 cm.	gónadas	0,002	0,005	0,004	0,002	0,004	0,70	0,10	0,007	0,30
1797 g.										
2º ejem.	músculo	0,07	0,004	0,10	-	0,003	0,46	0,002	0,008	0,12
macho	hígado	0,002	0,005	0,003	0,002	-	12,1	1,75	0,30	7,80
3-4 años	riñón	0,10	0,005	0,40	<0,001	-	2,45	0,40	0,008	1,02
65 cm.	gónadas	0,03	0,004	0,07	0,002	0,004	1,27	0,24	0,008	0,67
2294 g.										

Pantano de Orellana (Badajoz).

Fecha de captura: 10 - III - 1970.

Fueron capturados cuatro ejemplares, de los que se extrajo 100 g. - de músculo lateral, además de hígado, riñón y gónadas.

La extracción de todas las muestras se efectuó con hexano:acetona (40:60) (III-2.2), reparto entre hexano:acetonitrilo (III-3.2) y cromatografía de adsorción en columna de Florisil, con dos eluyentes: 1º: de 100 ml. de hexano y 2º de 200 ml. de mezcla de hexano:éter (90:10) (III-3.3).

CGL: se utilizaron el mismo tipo de aparato y las mismas condiciones que en el segundo muestreo del pantano de García Solá.

TABLA 32. Parámetros y contaminantes en ppm. hallados en los lucios del Pantano de Orellana (Badajoz).

		α -HCH	Linda no.	Hepta cloro.	Aldrín	Diel- drín	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
1º ejem. hembra 2-3 años 68 cm. 3093 g.	músculo	0,04	0,004	0,13	0,002	0,003	0,36	0,04	0,008	0,09
2º ejem. hembra 2-3 años 65 cm. 3150 g.	músculo	0,002	0,004	0,20	0,04	-	0,46	0,06	<0,005	0,12
3º ejem. hembra 2-3 años 64 cm. 3270 g.	músculo	0,05	0,07	0,09	0,03	0,003	0,64	0,002	<0,005	0,16
4º ejem. macho 2 años 55 cm. 1640 g.	músculo	0,002	0,004	0,09	0,002	0,004	0,44	0,07	0,005	0,10

TABLA 32.- (Continuación).

	α -HCH	Linda no.	Hepta cloro.	Aldrín	Diel- drín	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
Organos - hígado	0,28	0,003	0,003	0,002	0,001	2,20	0,60	0,007	1,0
de los tres riñón	0,13	0,005	0,12	0,003	0,005	1,06	0,40	0,08	0,8
primeros - gónadas	0,003	0,002	0,003	0,001	0,004	0,86	0,18	0,01	0,4
ejemplos									
Organos - hígado	0,06	0,003	0,10	0,001	0,004	0,80	1,20	0,008	0,36
del cuar- riñón	0,002	0,005	0,003	0,003	0,004	2,80	0,80	0,010	2,20
to ejemp. gónadas	0,20	0,005	0,400	0,001	0,004	2,20	0,31	0,010	1,60

1.3. MEDIO MARINO.

Las muestras tomadas de las costas están compuestas por mejillones (Mytilus edulis), sardina (Sardina pilchardus) y mielga (Squalus sp.). Este último género fué muestreado en dos especies: la mediterránea (S. achantias) y la atlántica (S. fernandinus-montis = S. blainwillei).

Mejillones (Mytilus edulis). Se van a extraer sólo la parte blanda.

Barcelona (1er. muestreo).

Fecha de captura: 4 - III - 1968.

Tomados de los viveros del puerto, criados sobre roquedo. Permanencia en los viveros de seis a siete meses. Edad total de nueve a diez meses.

Se hicieron cinco grupos de diez ejemplares cada uno. Extracción con hexano en caliente (III-2.1). Reparto en hexano:acetonitrilo (III-3.2). Cromatografía de adsorción en columna de Florisil, con 200 ml. de hexano:éter (85:15) como única fracción (III-3.3).

Cromatografía gas-líquido: Cromatografo Perkin-Elmer, modelo -- F-21 modificado. Columna de vidrio Pyrex (1,5 m x 2 mm. d.i.) rellena con 7,5 % de QF-1 (10.000 cst.) y 5 % de DC-200 (12.500 cst.) sobre Chromosorb G (AW.DMSC) de 80/100 mallas.

Detector de electrodo concéntrico con fuente de tritio a 20 voltios.

Gas portador: Argón:metano (95:5) a un flujo de 100 ml/min.

Registrador Siemens de 2,5 mV con una velocidad de 6 mm/min. Temperatura de la columna 180°C, del detector 190°C y del inyector 220°C.

TABLA 33.- Longitud peso del tejido blando y contaminantes, en ppm, encontrados en los mejillones de Barcelona (1er. muestreo).

	Long. media (cm)	Peso (gr.)	α -HCH	Lindano	Aldrin	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
1er. grupo	4,16	29,35	0,023	0,015	0,005	0,045	0,46	0,20	NC
2º "	5,30	53,00	0,020	0,11	-	0,030	0,20	0,20	NC
3º "	4,49	27,40	0,030	0,020	-	0,040	0,46	0,10	NC
4º "	4,88	34,50	0,015	0,020	0,010	0,030	0,20	0,10	NC
5º "	4,76	41,84	0,025	0,010	0,0020	0,020	0,020	0,10	NC

NC = presente, pero no calculado. El dieldrin se encuentra en forma de trazas en todos los grupos, el o,p-DDT, tambien, excepto en el 2º grupo que da 0,10 ppm.

Vigo (1er. muestreo).

Fecha de captura: 10-1-1968.

Tomados de la ría, criados en bateas. Se hicieron tres grupos; el primero de diez ejemplares y los otros dos de cinco cada uno. Además, dado el tamaño, se analizaron diez ejemplares individualmente.

Tanto la extracción, reparto, adsorción sobre Florisil, como la cromatografía gas-líquido, son iguales que para los grupos anteriores, por tanto no se repiten. Para el segundo muestreo se hará lo mismo.

TABLA 34.- Longitud, peso del tejido blando y contaminantes, en ppm, encontrados en los mejillones de Vigo (1er. muestreo).

	Long. media (cm.)	Peso (gr.)	α -HCH	Linda no.	Aldrín	Diel- drín	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
1er. grupo	8,8	261	0,005	0,004	0,004	<0,001	0,01	0,060	0,030	NC
2º "	7,6	90,1	0,010	0,006	0,002	<0,001	0,01	0,030	0,020	NC
3er. "	7,5	60,1	0,007	0,010	<0,001	<0,001	0,01	0,035	0,060	NC
1er. ejemp.	8,3	18,85	0,010	0,001	<0,001	<0,001	0,02	0,040	<0,005	NC
2º "	9,0	23,35	0,012	0,008	<0,001	<0,001	0,02	0,040	<0,005	NC
3º "	8,7	28,90	0,020	0,010	<0,001	<0,001	0,02	0,070	0,11	NC
4º "	9,2	40,30	0,010	0,010	<0,001	<0,001	0,01	0,050	0,10	NC
5º "	8,1	19,25	0,020	0,010	0,020	0,003	0,01	0,050	0,10	NC
6º "	8,2	26,11	0,015	0,010	<0,001	<0,001	0,02	0,050	0,10	NC
7º "	8,0	18,30	0,020	0,015	0,020	<0,001	0,02	0,050	0,05	NC
8º "	8,3	23,90	0,010	0,005	<0,001	0,010	0,02	0,070	0,10	NC
9º "	8,1	26,30	0,010	0,008	<0,001	<0,001	0,01	0,030	0,04	NC
10º "	9,0	35,70	0,010	0,010	<0,001	<0,001	0,005	0,020	<0,005	NC

NC = Presente, pero no calculado.

Blanes.

Fecha de captura: 20-1-1970

Tomados del espigón del puerto. Se hacen tres grupos de diez ejemplares cada uno.

Extracción con hexano:acetona (40:60) en aparato Soxhlet (III-2.2). Reparto en hexano:acetonitrilo (III-3.2). Cromatografía de adsorción en columna de Flrisil, empleando dos eluyentes: el primero de 100 ml. de hexano (fracción 1) y el segundo de 200 ml. de hexano:éter (90:10) (fracción 2) (III-3.3).

Cromatografía gas-líquido: Cromatografo Perkin-Elmer, modelo F-11. Detector de electrodo concéntrico con fuente de níquel-63, a 1 voltio.

Columna de vidrio Pyrex (1,8 m. x 3 mm. d.i.); rellena con 7,5 % de QF-1 (10.000 cst.) y 5 % de DC-200 (12.500 cst.) sobre Varaport-30 — de 80 mallas.

Gas portador: Nitrógeno de 99,9 de pureza a un flujo de 100 ml/-min.

Registrador Hitachi-Perkin-Elmer de 2,5 mV. y velocidad de 5 mm/-min.

Temperatura de la columna: 190º C, del detector 200º C y del inyector 220º C.

TABLA 35.- Longitud, peso del tejido blando y contaminantes, en ppm, hallados en los mejillones de Blanes.

[illegible]

Barcelona (2º muestreo).

Fecha de captura: 11-11-1970.

Tomados del puerto de Barcelona. Se hacen tres grupos de diez ejemplares cada uno.

El primer grupo se extrae con hexano:acetona (40:60) en Soxhlet (III-2.2), los otros dos grupos con hexano en caliente (III-2.1). El resto de la metodología es igual que en el caso de Blanes.

TABLA 36.- Longitud, peso del tejido blando y contaminantes, en ppm, hallados en - los mejillones de Barcelona (2º muestreo).

	Long. medio (cm.)	Peso (gr.)	α -HCH	Linda- no	Hepta- cloro.	Aldrín	Diel- drín.	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
1er.											
grupo	3,8	17,6	0,015	0,026	0,027	0,006	<0,001	0,075	0,075	0,022	1,50
2º "	4,98	49,6	0,004	0,008	0,003	0,002	<0,001	0,014	0,014	0,005	1,00
3º "	6,20	95,4	0,003	0,007	0,003	0,001	<0,001	0,030	0,014	0,002	0,66

Heptacloro epóxido y o,p-DDT en cantidades menores de 0,001 o no detectados.

Delta del Ebro.

Fecha de captura: 11-11-1970.

Tomados del puerto de Ampolla, se hacen tres grupos de diez ejemplares cada uno.

Se extraen con hexano:acetona (40:60) en aparato Soxhlet (III-2.2).

TABLA 37.- Longitud, peso del tejido blando y contaminantes, en ppm, encontrados en los mejillones del Delta del Ebro.

	Long. medio (cm.)	Peso (gr.)	α -HCH	Linda no.	Hepta cloro.	Aldrín	Diel- drín.	p,p- DDE	p,p- TDE	p,p- DDT	PCB
1er. grupo	3,04	14,0	0,019	0,043	0,001	<0,001	<0,001	0,200	0,450	<0,005	1,80
2º "	4,03	29,6	0,009	0,015	0,001	<0,001	<0,001	0,070	0,062	<0,005	0,90
3º "	4,03	24,0	0,006	0,017	0,001	<0,001	<0,001	0,140	0,060	<0,005	1,40
Heptacloro epóxido y o,p-DDT en cantidades menores de 0,001 o no detectados.											

Castellón.

Fecha de captura: 15-11-1970.

Tomados del puerto. Se hacen tres grupos de diez ejemplares. Extracción con hexano en caliente (III-2.1).

TABLA 38.- Longitud, peso del tejido blando y contaminantes, en ppm, encontrados en los mejillones de Castellón.

[illegible]

Vigo (2º muestreo).

Fecha de captura : 24-1-1970

Tomados de la ría, criados en bateas. Se hacen tres grupos de diez ejemplares.

TABLA 39.- Longitud, peso del tejido blando y contaminantes, en ppm, hallados en los mejillones de Vigo (2º muestreo).

[illegible]

Santander.

Fecha de captura: 17-V-1970.

Tomados en Cabo Menor. Tres de grupos de diez ejemplares. Extracción con hexano:acetona (40:60) en aparato Soxhlet (III-2.2).

TABLA 40.- Longitud, peso del tejido blando y contaminantes, en ppm, encontrados en los mejillones de Santander.

	Long. media (cm.)	Peso (gr.)	α -HCH	Linda no	Hepta cloro	Aldrín	Diel- drín.	p,p- DDE	p,p- TDE	p,p- DDT	PCB
1er. grupo	3,72	15,8	0,003	0,030	<0,001	0,001	0,001	0,002	0,020	0,007	0,74
2º "	3,83	13,5	0,027	0,040	<0,001	0,001	0,001	0,001	0,100	0,005	0,71
3º "	3,81	12,9	0,004	0,016	<0,001	0,001	0,001	0,002	0,003	0,005	0,56
Heptacloro epóxido y o,p-DDT en cantidades menores de 0,001 o no detectados.											

Las sardinas (Sardina pilchardus) fueron capturadas a pocas millas de la costa (no más de seis millas), dividiéndose los lotes en grupos de ocho ejemplares, con un total de tres grupos. De estos tres grupos, a dos de ellos se les va a extraer cabeza, a nivel postbranquial y además una sección cilíndrica de cuerpo que interesa a la piel, músculo y vísceras; del tercer grupo sólo se toma la sección del — cuerpo.

Palamós.

Fecha de captura: 20-I-1970.

Todas las muestras se extraen con hexano:acetona (40:60) en aparato Soxhlet (III-2.2), reparto entre hexano:acetonitrilo (III-3.2) y adsorción sobre Florisil con dos eluyentes (III-3.3).

CGL: aparato Perkin-Elmer modelo F-11 con detector de captura -- electrónica, electrodo concéntrico y fuente de Ni-63.

Columna convencional de vidrio Pyrex, rellena con una mezcla de - 7,5 % de QF-1 (10.000 cst) y 5 % de DC-200 (12.500 cst) sobre Varaport 30 de 80 por cien mallas. Gas portador: Nitrógeno a una flujo de 67 ml/min.

Temperatura de la columna: 190°C, del detector 205°C y del inyector 220°C.

Para el resto de las sardinas se emplean los mismos métodos y técnicas que las descritas en este caso.

TABLA 41.- Contaminantes en ppm, sexo y peso medio de las sardinas de Palamós.

	Peso (gr.)	α -HCH	Linda no.	Aldrín	Diel- drín.	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB	
1er. grupo	36,0	cabeza	0,009	0,004	0,001	0,002	0,45	<0,001	<0,005	3,7
		cuerpo	0,015	0,005	0,001	0,020	0,56	<0,001	<0,005	1,3
2º gru po	36,3	cabeza	0,002	0,010	0,002	0,050	0,27	0,200	0,005	6,9
		cuerpo	0,009	0,005	0,008	0,020	0,53	<0,001	<0,005	6,3
3er. grupo	36,0	cuerpo	0,014	0,016	0,001	0,090	0,45	<0,001	<0,005	5,0

Todos los grupos estaban compuestos de hembras.

Barcelona.

Fecha de captura: 11-II-1970.

TABLA 42.- Parámetros (sexo y peso medio) y contaminantes en ppm hallados en las sardinas de Barcelona.

	Peso (gr.)		α -HCH	Linda na	Aldrín	Diel- drín	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
1º grupo machos	40,7	cabeza	0,002	0,017	-	0,12	0,58	<0,001	<0,005	6,1
		cuerpo	0,002	0,003	0,001	0,14	0,63	<0,001	0,005	6,2
2º grupo hembras	48,1	cabeza	0,009	0,005	-	0,056	0,38	0,002	<0,005	2,8
		cuerpo	0,002	0,004	-	0,004	0,54	0,063	-	5,2
3º grupo machos	44,8	cuerpo	0,001	0,003	-	0,002	0,20	0,035	-	3,3

Castellón.

Fecha de captura: 16-VI-1970

De los tres grupos, solo a uno se le extrajo cabeza y cuerpo, a los otros dos solamente cuerpo y cabeza respectivamente.

TABLA 43.- Peso medio y contaminantes en ppm, encontrados en las sardinas de Castellón.

	Peso (gr.)		α -HCH	Lindano	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	PCB
1º grupo	32	cabeza	0,01	0,025	0,001	0,14	<0,001	0,90
		cuerpo	0,009	9,020	<0,001	0,15	<0,001	0,70
2º grupo	29	cuerpo	0,009	0,018	<0,001	0,08	<0,001	0,54
3º grupo	29	cabeza	0,002	0,015	<0,001	0,13	<0,001	0,60

Vigo.

Fecha de captura: 5 - VI - 1970

Se hacen sólo dos grupos a los que se extrae cabeza y cuerpo.

TABLA 44.- Parámetros (sexo y peso medio) y contaminantes en ppm de las sardinas de Vigo.

	Peso (gr.)		α -HCH	Linda no.	Diel- drín.	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
1º grupo machos	63,1	cabeza	0,008	0,042	<0,001	0,07	0,002	<0,005	0,38
		cuerpo	0,006	0,018	-	0,07	0,02	0,007	0,38
2º grupo hembras	56	cabeza	0,009	0,006	0,016	0,06	0,002	0,005	0,34
		cuerpo	0,065	0,200	0,014	0,10	0,001	<0,005	0,26

Santander.

Fecha de captura: 5-VI-1970.

TABLA 45.- Peso medio y contaminantes en ppm, encontrados en las sardinas de Santander.

	Peso (gr.)		α -HCH	Lindano	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT	PCB
1º grupo	85	cabeza	0,002	0,003	<0,001	0,002	<0,001	-	0,69
		cuerpo	0,002	0,003	<0,001	0,001	<0,001	<0,005	0,50
2º grupo	86	cabeza	0,002	0,002	<0,001	0,001	-	<0,005	0,21
		cuerpo	0,001	0,002	-	0,001	-	<0,005	0,03
3º grupo	82	cuerpo	0,001	0,001	-	0,001	-	<0,005	0,21

Mielga (Squalus achanthias y S. fernandinus-montis). La toma de estas muestras se efectuó a poca distancia de la costa (de 1-2 millas).

Barcelona.

Fecha de captura: 18-1-1968.

Se capturaron cuatro ejemplares, de los que se obtuvo 100 g. de músculo lateral, hígado y riñón.

El músculo se extrajo con hexano en aparato Soxhlet (III-2.2) Los órganos lo fueron con hexano en caliente (III-2.1).

El reparto entre disolventes fué con hexano:dimetilformamida (III-3.1) para el músculo y hexano:acetonitrilo (III-3.2) para los órganos. La adsorción sobre Florisil se efectuó con 200 ml. de hexano:éter (90:10) como eluyente (III-3.3).

CGL: Para los extractos de músculo se empleó un aparato Perkin-Elmer, F-21 modificado, con detector de captura electrónica de electrodo concéntrico y fuente de tritio.

Columna de vidrio Pyrex convencional, rellena con una mezcla de 7,5 % de QF-1 (10.000 cst.) y 5 % de DC-200 (12.500 cst.) sobre Chromosorb G (AW.DMSC) de 80/100 mallas. Gas portador: Argón:metano (95:5) a un flujo de 100 ml/min. Temperatura de la columna 180º C, del detector 190º C y del inyector 220º C.

Los extractos de los órganos fueron analizados en un F-11, de la misma marca que el anterior análisis, con detector de captura

electrónica, electrodo concéntrico y fuente de tritio. Columna convencional de vidrio Pyrex y con la misma mezcla de fases pero soportadas por Gas-Chrom Q 60/80 mallas.

Gas portador: Nitrógeno a 100 ml/min. de flujo. Temperaturas: columna - a 190º C, detector a 195º C. e inyector a 205º C.

TABLA 46.- Parámetros (longitud, sexo, edad y peso) y contaminantes en ppm de las mielgas de Barcelona.

		α -HCH	Lindano	Aldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT
1er. ejemplo (hembra, 3 - años, 53 cm, 590 g.)	músculo	<0,0001	0,009	<0,001	0,29	0,32	0,40
2º ejemplo (Hembra, 3 años, 53 - cm., 588g.)	músculo	-	-	-	0,47	0,39	0,005
	hígado	0,031	0,110	0,052	0,67	0,22	1,02
3er. ejemplo (macho, 3 - años, 60 cm. 735 g.)	músculo	<0,0001	0,006	0,006	0,24	0,32	0,16
	hígado	<0,0001	<0,0001	<0,001	6,20	3,40	8,50
4º ejemplo - (macho, 3 - años, 56 cm. 624 g.)	músculo	<0,0001	-	<0,001	0,28	0,38	0,31
	hígado	<0,0001	<0,0001	0,36	4,20	2,16	5,04
Riñones (1)		0,006	0,015	0,010	0,07	0,08	0,10

(1) Los riñones son para los cuatro especímenes, dado su pequeño tamaño. El dieldrin se encuentra en forma de trazas y los PCB están presentes, pero no calculados.

Vigo.

Fecha de captura: 26-1-1968.

En esta localidad se capturan cinco ejemplares, de los que además de músculos y órganos se obtienen huevos y embriones.

La extracción de las muestras se efectúa con hexano en caliente (III-2.1), el reparto se hace entre hexano:acetonitrilo (III-3.2) y la adsorción en columna de Florisil con un eluyente formado por 200 ml. de la mezcla de hexano:éter (90:10) - (III-3.3).

Las condiciones operatorias, así como los aparatos utilizados, corresponden con las muestras de Barcelona, para esta especie.

TABLA 47.- Parámetros biológicos y contaminantes en ppm, encontrados en las miel gas de Vigo.

		α -HCH	Lindano	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT
1er. ejemplo (hembra, 5 - años, 61 cm. 1090 g.)	músculo	0,004	0,003	0,007	-	<0,005	0,044	0,053
	hígado	0,25	<0,0001	0,39	-	0,69	0,470	0,92
2º ejemplar (hembra, 5 - años, 64 cm. 1370 g.)	músculo	0,007	<0,0001	<0,001	-	-	0,011	<0,005
	hígado	0,035	<0,0001	0,30	-	0,41	0,330	0,67
	huevo	0,024	0,012	0,10	0,007	0,22	0,150	1,09
	embrión	0,019	0,036	0,056	0,028	0,11	0,080	0,25
3er. ejemplar (hembra, 5 - años, 55 cm. 770 g.)	músculo	0,006	0,003	0,014	-	-	0,009	<0,005
	hígado	<0,0001	0,110	<0,001	-	1,50	0,34	1,80

../..

TABLA 47.- (Continuación).

		α -HCH	Lindano	Aldrín	Dieldrín	p,p'DDE	p,p'TDE	p,p'DDT
4º ejemplo - (hembra, 5 - años, 54 cm., 769 g.)	músculo	<0,0001	0,007	0,024	-	-	-	-
	hígado	<0,0001	0,014	0,025	-	1,20	0,49	2,10
5º ejemplo - (macho, 5 - años, 56 cm., 920 g.)	músculo	<0,0001	0,007	0,024	-	-	-	-
	hígado	0,013	0,012	0,064	<0,001	0,25	0,10	0,26
Riñones (1)		0,010	0,022	0,006	<0,001	0,034	0,030	0,17

(1) Los riñones son para los cinco especímenes, por su pequeño tamaño. Los PCB están presentes, pero no calculados.

2. SIGNIFICADO BIOLOGICO DE LOS NIVELES DE RESIDUOS ENCONTRADOS.

En este apartado se va a plantear la relación que puede existir entre los niveles de insecticidas órganoclorados y análogos, reflejados en las tablas 26 a — 47, con respecto a las especies analizadas que los contienen, así como la repercusión que se puede presentar en los diferentes medios ecológicos en que viven. Se pretende, también, hacer un resumen (tablas y diagramas de barras de las medias) de los resultados expresados en el anterior apartado.

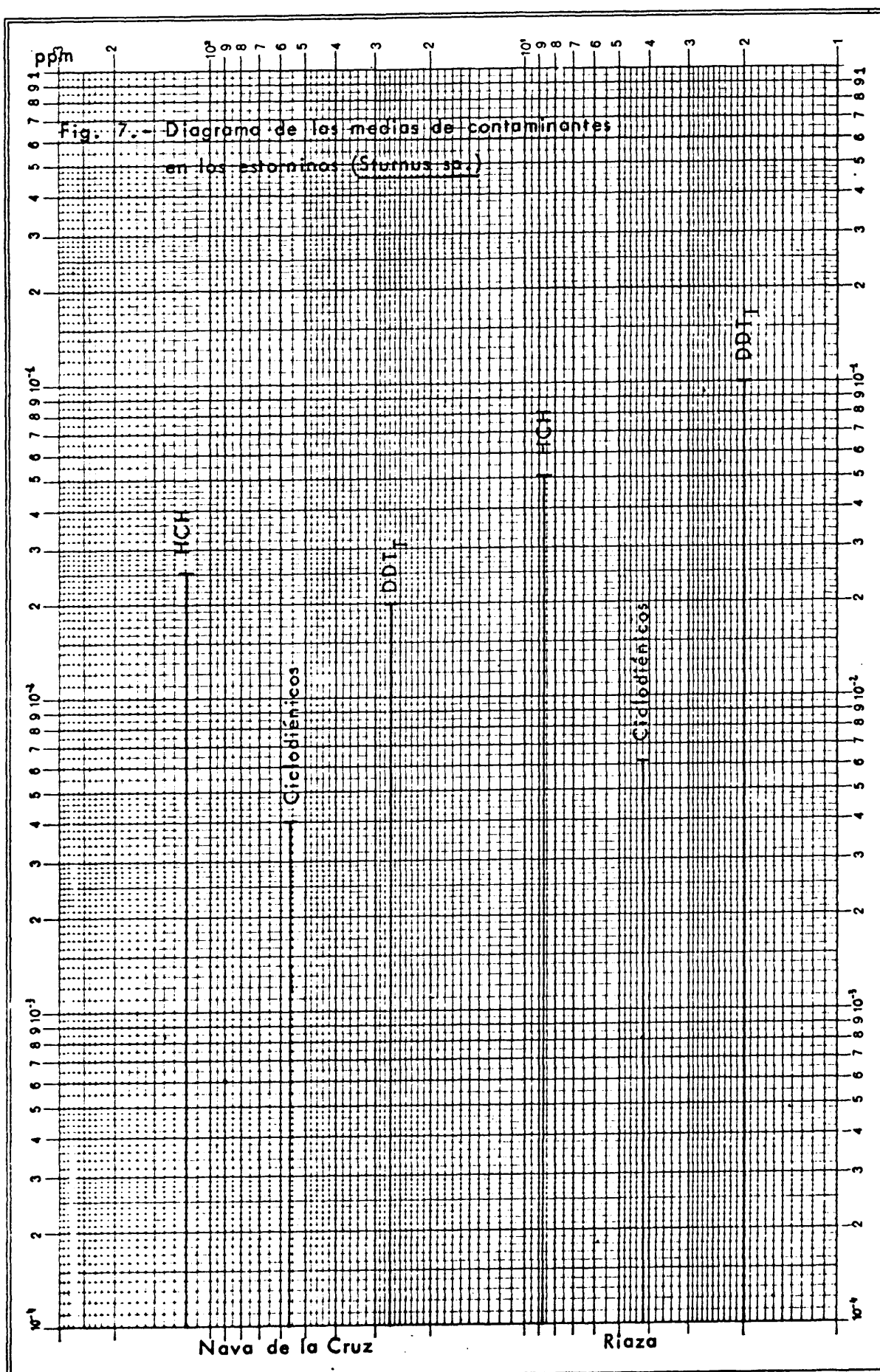
Los estorninos (Sturnus sp.), cuyas zonas de captura se encuentran relativamente cerca entre sí (unos 120 Km.), presentan una contaminación semejante en DDT total ($DDT_T = DDT + TDE + DDE$); en la primera localidad se encuentra un nivel de 0,02 ppm y en la segunda de 0,10 ppm, valores medios correspondientes a cada ejemplar (en el primer caso se analizan 28 ejemplares y en el segundo 29);—

la desviación es posible que se deba a que en los muestreos de Nava de la Cruz, o no existe TDE o había sido totalmente transformado.

En el grupo HCH se observa una desviación, de 0,025 a - - 0,05 ppm; no ocurre lo mismo con la familia de los ciclodiénicos, - que se encuentra un intervalo de 0,004 a 0,006 respectivamente, - aunque en la primera localidad no se detecta el aldrín, es probable, como en el caso del TDE, que no exista o haya sido transformado a - dieldrín. En la figura 7 se expresan gráficamente, mediante un diagrama de barras, las medias en ppm de los contaminantes hallados - para esta especie.

Grolleau y Giban (56) indican las relaciones entre tres especies de aves (gallina, perdiz y faisán) y la toxicidad de plaguicidas en semillas tratadas que se les daba como alimento, mostrando la dependencia entre especie y sobre todo del tipo de compuesto, llegando a la conclusión de que en orden decreciente la toxicidad de los de los insecticidas órganoclorados es el siguiente: Aldrín, dieldrín, heptacloro y lindano.

Asímismo, Y. Lutz Ostertag y H. Lutz (57), estudian los efectos del aldrín en el desarrollo embrionario de gallina, codorniz y faisán; utilizando 1.000 ppm de aldrín disuelto en alcohol o acetona, y sumergiendo los huevos e inmediatamente sacados para que se evapore el disolvente y 50-78 mg/huevo en el caso de la gallina, inoculados mediante una solución aceitosa (aceite de oliva). las reacciones observadas en gallina y faisán se manifiestan fundamentalmente en el tracto genital del embrión, haciendo pensar en un fenómeno de pseudo -

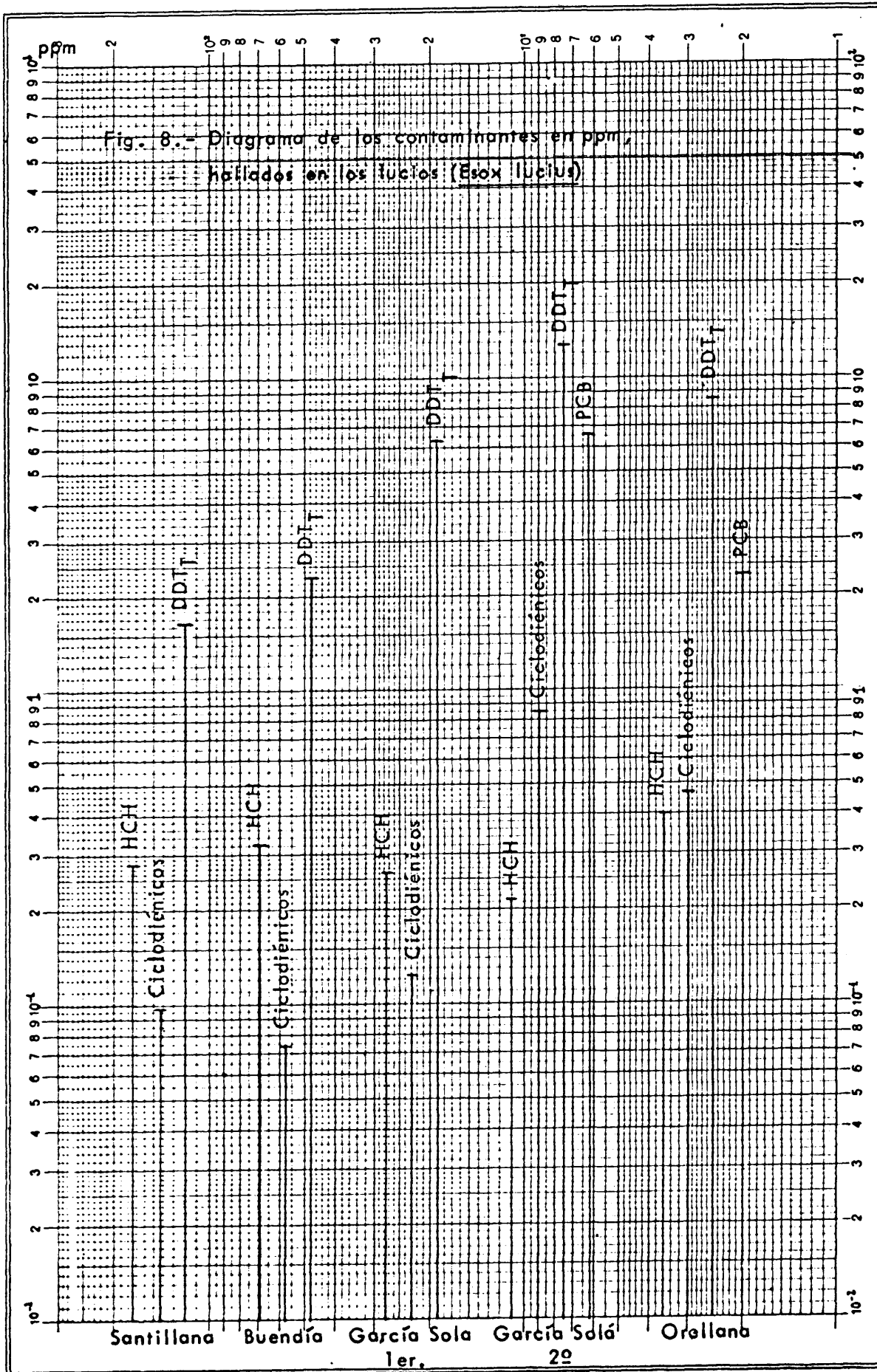


castración parcial: reducción de la talla de los testículos, perturbación hormonal cuyo resultado es el mantenimiento de los canales de Müller, que normalmente sufren regresión y desaparecen. La acción de este mismo producto en el caso de la codorniz semeja a un fenómeno precoz de feminización en los machos.

El lucio (Esox lucius) que puede formar con el estornino lo que podría denominarse medio continental, está mejor estudiado, en primer lugar porque el muestreo individual es muy completo, ya que en todos los casos se han obtenido una serie de órganos además del tejido muscular; la alimentación de esta especie es muy definida, carnívoro totalmente, y por último es mayor el número de zonas muestreadas.

En la tabla 48, se dan los valores medios para cada localidad y con objeto de hacer más clara la exposición de los datos se representa en la figura 8 un diagrama de barras, en el que se supone que la suma de los contaminantes encontrados en los distintos órganos y músculo es el que existe en el conjunto del animal. Las características de las muestras están descritas en las páginas 117-124.

Por localidades, la contaminación parece estar bastante clara: García Solá, Buendía, Orellana y Santillana, en orden decreciente.



Teilung 1-300 u. 1-10000 Einheit 62,5 mm
 Logar. División Unidad

Med. 203



TABLA 48.- Medias de los contaminantes, en ppm, halladas en los lucios (Esox Lucius)

Localidades		Muestras	γ-HCH	Linda no.	Hepta cloro.	Aldrín	Diel- drín	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
Santillana.		músculo	0,012	0,025	-	0,015	<0,001	0,025	0,05	0,01	NC
		hígado	0,036	0,027	-	0,045	<0,001	0,38	0,06	0,28	NC
		riñón	0,061	0,050	-	0,024	<0,001	0,11	0,16	0,12	NC
		branquias	0,039	0,023	-	0,008	<0,001	0,18	0,14	0,10	NC
Buendía		músculo	0,020	0,005	-	<0,001	<0,001	0,09	0,03	0,036	NC
		hígado	0,011	0,003	-	0,008	<0,001	0,21	0,10	0,08	NC
		riñón	0,033	0,230	-	0,050	<0,001	0,35	0,39	0,70	NC
		branquia	0,010	0,006	-	0,010	<0,001	0,11	0,06	0,06	NC
García - Solá	1er. muestreo	músculo	0,064	0,065	-	0,017	<0,001	0,82	0,31	0,02	NC
		hígado	0,020	0,011	-	0,038	-	1,08	0,13	0,14	NC
		riñón	0,027	0,015	-	0,049	<0,001	2,50	0,16	0,11	NC
		branquia	0,018	0,009	-	<0,001	<0,001	0,12	0,06	0,07	NC
		gónada	0,019	0,009	-	0,010	-	0,50	0,09	0,05	NC
	2º muestreo	músculo	0,080	0,005	0,090	0,020	0,003	0,45	0,002	0,009	0,12
		hígado	0,046	0,005	0,046	0,001	0,002	8,15	0,84	0,15	4,50
		riñón	0,050	0,005	0,240	0,010	0,002	1,45	0,26	0,09	1,46
	gónada	0,016	0,005	0,037	0,002	0,004	1,00	0,17	0,008	0,48	
Orellana		músculo	0,027	0,020	0,120	0,018	0,003	0,50	0,05	0,005	0,12
		hígado	0,170	0,003	0,050	0,002	0,002	1,50	0,90	0,008	0,68
		riñón	0,065	0,005	0,060	0,003	0,005	1,93	0,60	0,045	1,50
		gónada	0,100	0,003	0,200	<0,001	0,004	1,53	0,25	0,010	1,00

NC = presente, pero no calculado.

Desde el punto de vista cuantitativo, en todas las zonas, - los insecticidas más significativos pertenecen al grupo del DDT, observándose una mayor proporción en los órganos analizados si se comparan con el tejido muscular, siendo de 5 a 10 veces más en el hígado que el músculo, lo que indica el papel acumulador y detoxicador del hígado. En los mamíferos el paso de DDT a TDE y DDE se produce en el hígado fundamentalmente, lo que da por resultado la hidroxilación a nivel microsómico de esteroides, produciéndose derivados esteroídicos más polares, que son fácilmente eliminados, con el consiguiente decrecimiento de fecundidad cuando éstos son estrógenos (58) (59).

En los hígados de peces no se han encontrado sistemas microsómicos con el mismo significado que en los mamíferos, siendo probable que los tenga, aunque no se encuentren en una forma localizada sino difusa entre los diferentes órganos y glándulas (60).

Sobre el lucio existen muy pocas referencias en la bibliografía, pues no es un pez comercial y normalmente se citan los salmónidos, ciprinidos, gambusias, etc.; es decir, peces con algún interés económico, y cuando se hace referencia a esta especie es para indicar que como se alimenta de todas las especies que conviven con él, las cantidades de plaguicidas que acumula serán siempre iguales o superiores a las que pueden encontrarse en el ecosistema en que vive. Burdick et al. (61) estudiaron durante cuatro años las truchas de lago, midiendo el DDT_T en las hembras adultas y en sus huevos, así como la mortalidad en los alevines, obteniendo como resultado el

que esta mortalidad viene inducida cuando los huevos contienen 2,9 ppm de DDT_T como mínimo. Aunque no existe una correlación biológica exacta entre los salmónidos y los esócidos, las cantidades encontradas en las huevas de los lucios son 0,65 en el primer muestreo de García Solá, 0,80 en el segundo y 1,08 en Orellana; los niveles en los testículos son más elevados, 1,52 en el segundo muestreo de García Solá y 2,51 en Orellana.

El medio marino se ha subdividido en tres especies muy diferentes entre sí biológicamente, de las que dos están en los primeros niveles tróficos y la tercera se encuentra prácticamente en el último.

Del mejillón (Mytilus edulis) se ha hecho un amplio muestreo, del cual sólo hay dos localidades de interés como productoras de mejillones para consumo humano (Vigo y Barcelona), pudiendo considerarse a Santander muy próxima a esta escala, el resto de las zonas carecen de importancia a este respecto y no forman parte de producción básica para consumo. El interés de su estudio es importante porque entran dentro del ecosistema correspondiente de una manera más natural, pues no tienen ningún tipo de cuidados, como en los casos de criaderos.

En la tabla 49 se muestran los valores medios obtenidos para cada localidad. Las características de estas muestras están descritas en las páginas 124-131.

TABLA 49.- Niveles medio, en ppm, encontrados en mejillón (Mytilus edulis)

		α -HCH	Linda no.	Hepta cloro	Aldrín	Diel- drín.	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
Blanes		0,003	0,01	0,023	0,002	0,002	0,035	0,011	0,012	0,58
Barcelona	1º	0,002	0,015	-	0,003	<0,0001	0,330	0,300	0,140	NC
	2º	0,007	0,010	0,011	0,003	<0,0001	0,054	0,034	0,010	1,05
Delta del -- Ebro		0,011	0,025	0,001	<0,00001	0,001	0,130	0,190	<0,0005	1,36
Castellón		0,001	0,018	<0,0001	0,001	0,025	0,001	0,014	0,010	0,61
Vigo	1º	0,006	0,004	-	0,0015	<0,0001	0,007	0,020	0,026	NC
	2º	<0,00001	0,009	<0,0001	-	<0,0001	0,004	0,006	0,005	0,10
Santander		0,011	0,028	<0,0001	0,001	0,001	0,001	0,035	0,005	0,67

NC - presente, pero no calculado.

La figura 9 expresa el diagrama de barras correspondiente a los niveles medios de contaminación en esta especie marina.

La tabla 50 indica, ante la posibilidad de ingerir 1Kg. de partes blandas de mejillones de una localidad poco contaminada (Vigo) y otra contaminada -- (Castellón), los mg. de insecticida órganoclorados que se tomarían comparados con la ingestión máxima aceptable diaria por el hombre.

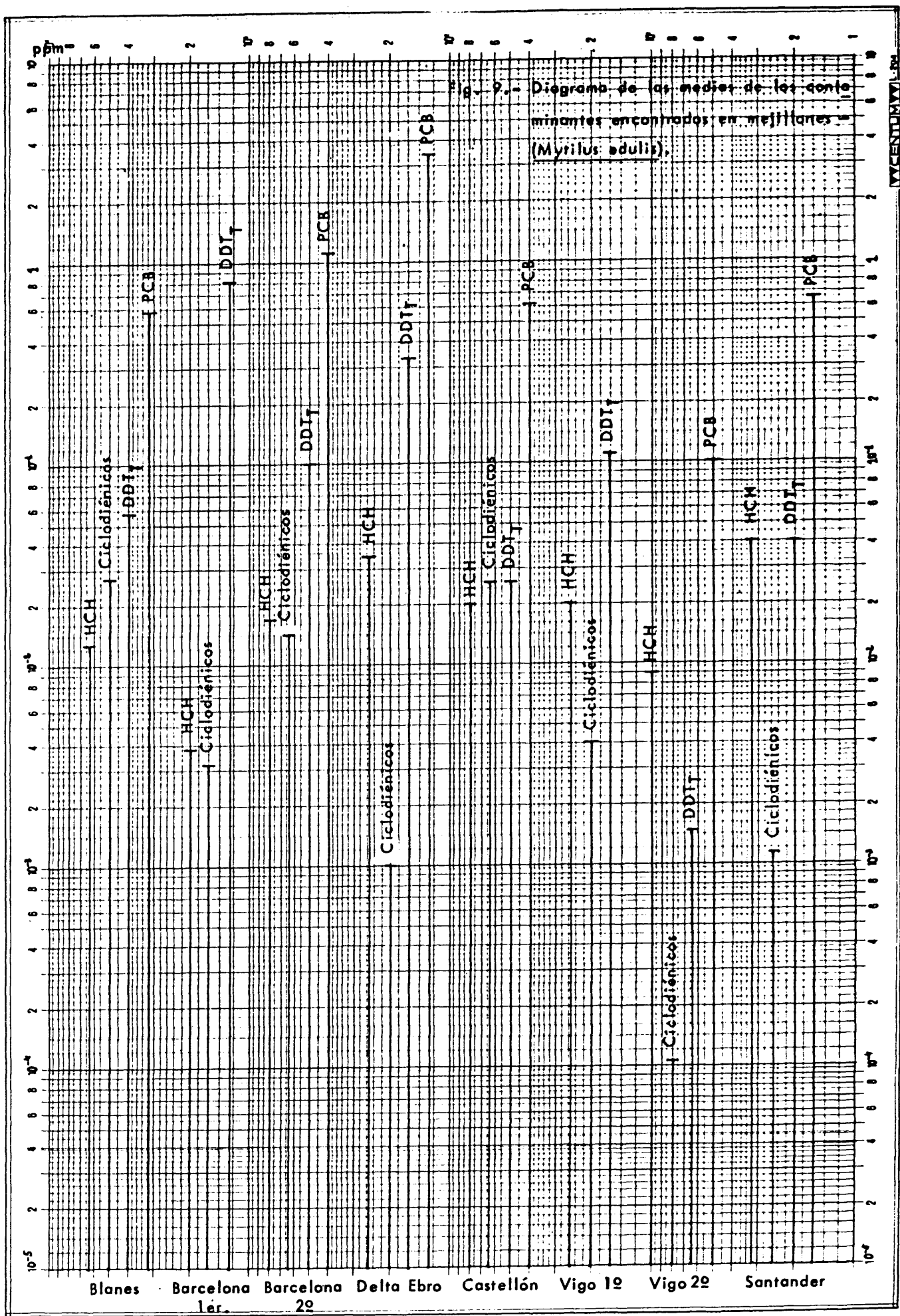


Fig. 9. - Diagrama de las medias de los contaminantes encontrados en mejillanes (*Mytilus edulis*).

WYCENTIAV-1-84

TABLA 50.- Insecticidas órganoclorados ingeridos con 1 Kg. de mejillones, comparado con la ingestión máxima aceptable diaria por el hombre.

Insecticidas y análogos.	Mejillones de Vigo (mg/Kg)	Mejillones de Castellón (mg/Kg)	Ingestión máxima (mg/Kg)
Lindano	0,006	0,018	0,0120
Heptacloro	<0,001	<0,0001	0,0005
Aldrín	<0,001	0,001	0,0001
Dieldrín	<0,001	0,025	0,0001
p,p'-DDE	0,005	0,001	-- (a)
p,p'-TDE	0,013	0,014	-- (a)
p,p'-DDT	0,015	0,010	0,010
PCB	0,100	0,610	(b)

(a) Dada su nula o baja toxicidad aguda para el hombre, no existen niveles estudiados.

(b) En las citas (63) y (64), se expresan las dificultades actuales para asignar datos sobre toxicidad.

La acumulación de estos insecticidas está incrementada en — la zona mediterránea, conclusión que también se va a sacar de las — dos especies estudiadas, sardina y mielga.

Indudablemente, el mejillón toma estos productos del agua y sobre todo del planctón de que se alimenta, pudiendo acumular hasta 70.000 veces la concentración de DDT que existe en su medio ambiente.

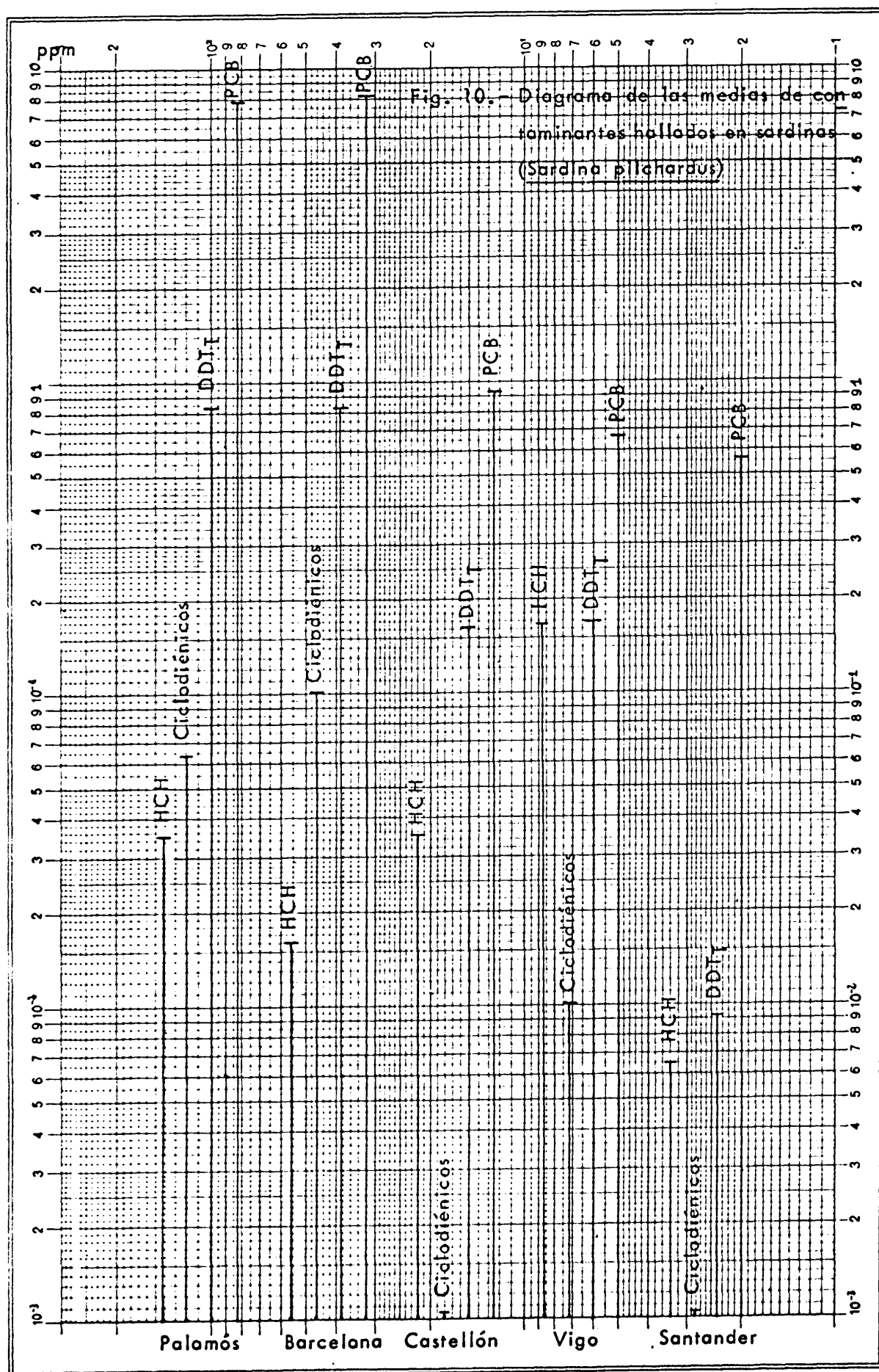
Está probado que los compuestos órganoclorados y dentro de ellos los herbicidas del tipo del 2,4-D (62), a concentraciones que van de 0,1 ppb a 0,001 ppb respectivamente, afectan el desarrollo larvario de la mayoría de los moluscos bivalvos; además, los adultos se ven afectados en el crecimiento, sobre todo la concha, que probablemente se vea afectado el mecanismo de secreción y ordenación de las capas de carbonato cálcico, con lo que pueden ser atacados y destruidos con más facilidad por predadores, tales como estrellas de mar y gasterópodos carnívoros.

Las conclusiones sobre la sardina (*Sardina pilchardus*), pueden adaptarse perfectamente a lo dicho anteriormente, por un lado, con el lucio, sobre desarrollo embrionario y por otro con lo expresado para el mejillón por el tipo de alimentación, que es fundamentalmente microfágico, aunque no se pretende decir que tenga que ser exactamente igual.

La tabla 51 y la figura 10 muestran los valores medios y el diagrama de barras para esta especie. En las páginas 131-34 se indican las características de estas muestras.

TABLA 51.- Niveles medios, en ppm, hallados en la sardina (*Sardina pilchardus*).

Localidades.	α -HCH	Linda no.	Aldrín	Dieldrín.	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT	PCB
Palamós	0,016	0,013	0,004	0,06	0,75	0,067	<0,0005	7,70
Barcelona	0,005	0,010	<0,00001	0,10	0,77	0,034	<0,0005	7,90
Castellón	0,010	0,026	-	<0,0001	0,16	<0,0001	-	0,91
Vigo	0,044	0,120	-	0,015	0,15	0,012	0,011	0,68
Santander	0,002	0,003	-	<0,0001	0,002	<0,0001	<0,0005	0,54



Teilung 1-300 u. 1-10000 Einheit 62,5 mm
Logar. Division Unidad



Mod. 203

La sardina constituye también una fuente de alimentación humana muy importante, no solo porque se consumen directamente, - sino porque entran a formar parte de la dieta de otros peces pelágicos, tal como se indica en las páginas 45-46 y también son utilizados por el hombre. En la tabla 52 se ponen de manifiesto los mg. de insecticidas que se tomarían al ingerir un kilogramo de sardinas - de una zona contaminada (Barcelona) y de otra poco contaminada - (Santander).

TABLA 52.- Insecticidas órganoclorados ingeridos por 1 Kg. de sardinas, comparados con la ingestión máxima aceptable - diaria por el hombre.

Insecticidas y análogos	Sardinas de Barcelona (mg/Kg)	Sardinas de Santander (mg/Kg)	Ingestión máxima (mg/Kg)
Lindano	0,010	0,0030	0,012
Aldrín	<0,00001	-	0,0001
Dieldrín	0,10	0,0001	0,0001
p,p'-DDE	0,770	0,0020	-- (a)
p,p'-TDE	0,034	<0,0001	-- (a)
p,p'-DDT	<0,0005	<0,0005	0,010
PCB	7,900	0,54	(b)

(a) Dada su nula o baja toxicidad no existen límites.

(b) En las citas (63) y (64), se expresan las dificultades actuales - para asignar datos sobre toxicidad.

En la tabla 53 se exponen los niveles medios que se han hallado en mielga (Squalus sp.); se han separado huevos y embriones -

encontrados en una hembra, pues dado el tamaño, por un lado, y la naturaleza de las muestras, pueden considerarse independientes por completo.

TABLA 53.- Niveles medios de residuos encontrados en mielga (Squalus sp.).

Localidades y -- muestras,	α -HCH	Lindano	Aldrín	Dieldrín	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT
Barcelona	0,008	0,035	0,10	0,001	3,1	1,8	3,60
(especimen	0,061	0,035	0,170	0,001	0,81	0,30	1,10
Vigo {huevo	0,024	0,012	0,100	0,007	0,22	0,15	1,10
(embrión	0,019	0,036	0,056	0,028	0,11	0,08	0,25

Los PCB están presente, pero no se pudieron calcular.

Estos datos en conjunto nos dan la visión de una mayor contaminación en el Mediterráneo, al menos en lo que concierne al grupo del -- DDT, que es tres veces superior que lo hallado en el Atlántico, para esta especie. Las otras dos familias de compuestos, sobre todo los ciclodiénicos, probablemente se deba a que, como esta especie forma uno de los últimos escalones tróficos del litoral, acumule lo que tengan las otras especies de que se alimenta.

Excepcionalmente se obtuvo de una hembra grávida un grupo de -- huevos y embriones poco desarrollados, en los que parece no encontrarse --

muchas dificultades para interpretar el transporte y transformación des de la madre (especimen activo) al huevo (célula poco activa), mientras no empiece a dividirse y embrión (especimen muy activo). Para el grupo del DDT, que es el mejor representado, se encuentra 2,21 ppm de media para el adulto, 1,47 ppm en el huevo y 0,44 en el embrión, con lo que puede presuponerse que la madre cede una parte -- proporcional del DDT_T al huevo, y éste en su inactividad no lo transforma apenas, pero el embrión activamente transforma y elimina disminuyendo la tasa del DDT_T.

Algo parecido se observa para la familia de los ciclodienicos: el adulto contiene 0,171 ppm de ciclodienicos totales, el huevo 0,107 y el embrión 0,084 ppm. respectivamente. La relación entre -- adulto y huevo es la misma para las dos familias de compuestos, en cambio, ya no hay la misma proporcionabilidad para el huevo y el em brión, en donde la transformación y excrección de la familia del DDT es el doble aproximadamente que en el grupo de los ciclodienicos.

Intencionadamente se ha dejado el grupo de los PCB para la última parte, por tres motivos principalmente:

- La importancia de los PCB como contaminante se ha descubierto hace, relativamente, poco tiempo.
- El cálculo cuantitativo ofrece muchas dificultades, y aún -- hoy día, sino se poseen equipos muy delicados y caros, las medidas no se pueden efectuar adecuadamente.
- La toxicidad de las mezclas industriales de PCB se está es tudiando todavía, y por tanto no existe aún un acuerdo que

indique como se deben relacionar con respecto al análisis cualitativo, cuantitativo y a la especie animal o vegetal que los contenga.

Unas experiencias realizadas por J.G. Vos et al. (63), sobre la toxicidad de estos compuestos ha dado como resultado la separación, mediante cromatografía de adsorción sobre Florisil de componentes (policlorodibenzodioxinas y policlorodibenzofuranos), causantes de la toxicidad de los PCB.

Otros autores (64), han demostrado que los policlorodibenzofuranos pueden encontrarse también en las formulaciones de herbicidas del tipo 2,4-D y 2,4,5-T, con lo que la toxicidad de estos compuestos se ve aumentada. Tales productos se forman durante los procesos de síntesis de estos compuestos, tanto sean herbicidas como PCB.

Es importante indicar que estos compuestos tóxicos se hallan en proporciones muy pequeñas. J.G. Vos (63), sobre una base de 500 mg. de formulación técnica de PCB, separa por cromatografía de adsorción 20-40 ng. de dichas impurezas. Así mismo estos autores remarcan la importancia de la procedencia del producto industrial, pues el Clophen (Bayer) es más tóxico que el Phenochlor (Prodelec) y éste — lo es más que el Arochlor (Monsanto).

Como resumen, y ya que casi toda las muestras analizadas — son acuáticas, se pueden analizar las relaciones entre los plaguicidas y los animales acuáticos, ya estén situadas en el mismo medio ecoló—

gico o en otro diferente: "La presencia de determinados niveles residuales produce efectos tales como ataque al sistema nervioso central, dificultades respiratorias, lentitud en los movimientos y algunas veces la muerte.

La exposición crónica produce la acumulación de residuos en los tejidos grasos, daños en el hígado, riñón y branquias, reduce la reproducción, disminuye las respuestas a los estímulos exteriores, pérdida de apetito, restringe el crecimiento, disminuye la resistencia a las enfermedades, cambia la composición sanguínea, produce, en los peces, - una necesidad de aguas anormalmente calientes, modificaciones en el metabolismo salino, incremento de consumo de oxígeno, inactivación de colinesterasa, etc.". (65)

Loosanoff (66) llega a la siguiente conclusión: "Deseo repetir que, en nuestra era, el uso de los plaguicidas no puede ser evitado. Hemos hecho muchos esfuerzos para ello, sin embargo, el uso de estos productos mientras sea prudente y cuidadoso es posible. Todas estas sustancias son básicamente contaminadoras, y su presencia en el mar es indeseable excepto cuando sirven para un fin útil, p.e., combatir el exceso de planctón que puede hacer peligrar los bancos de moluscos comerciales y, acaso, hasta los bancos de peces".

Con respecto a las especies aquí analizadas se sacan las siguientes ideas:

- Las diferencias de los niveles de contaminación encontradas entre especies, ya sean fijas o móviles, mejillón y miel

ga, dentro del ámbito litoral, respectivamente y las pelágicas, sardina.

- Importancia del tipo de alimentación, omnivorismo (estornino), microfagia (mejillón y sardina) y carnivorismo (lucio y mielga) y por tanto rango dentro de los niveles tróficos.
- Importancia de las condiciones climáticas (temperatura, luminosidad, meteoros, etc.), cultivos agrícolas, industrias y demás actividades humanas.
- Relaciones entre los aspectos fisiológicos del individuo con la entrada y eliminación de estos compuestos, ya sea como producto transformado o intransformado.

3.- CUENCA DEL RIO LLOBREGAT.

El muestreo en distintas zonas de la Península, con el consiguiente estudio de la contaminación de las especies capturadas, ha dado como resultado más general, que el Mediterráneo está más contaminado que el Atlántico y Cantábrico; dentro de este primer litoral se observó que la costa catalana en conjunto da las tasas más altas.

En los mapas 1 y 2 se exponen los tratamientos agrícolas que se realizan en España contra las cuatro plagas más importantes y en los que entran a formar parte, fundamentalmente insecticidas órganoclorados (19), viéndose la región catalana afectada en su casi totalidad. Si se contabiliza el número de industrias químicas que existen en Cataluña y el resto de la Península, que cumplan la condición de

tener un capital mínimo de treinta millones de Pts. o que su producción sea al menos del 10 % de la nacional, la región catalana cuenta con 310, de las que 250 están en la provincia de Barcelona, en comparación con las 500 del resto de España peninsular (67).

Estos datos parecen lo suficientemente convincentes para que se efectuasen algunos muestreos en la cuenca del río Llobregat, y de hecho se hicieron dos que van a ser descritos a continuación, en el mismo orden que se indica en las páginas 49 y 50.

3.1. PRIMER MUESTREO (Abril 1969).

Todas las muestras fueron analizadas por CGL en un aparato Perkin-Elmer, modelo F-11, con detector de captura electrónica de electrodo concéntrico y fuente de tritio.

La columna de vidrio Pyrex convencional, rellena con una mezcla de 15,0 % de QF-1 (10.000 est.) y 10,0% de DC-200 (12.500 est.) sobre Gas Chrom Q 60/80 mallas.

Gas portador: Nitrogeno a un flujo de 100 ml/min. Temperaturas: columna a 190°C, detector a 195°C y el inyector a 210°C.

Para no repetir en cada punto de la cuenca la extracción y purificación de las muestras, se indican estos métodos para cada tipo de muestra en general y en caso de que hubiese alguna contraindicación se hará constar.

Agua: se extrae con cloroformo (III-2.4).

Suelo: extracción con hexano:acetona (40:60) en aparato Soxhlet (III-2.3).

Lombriz (Lumbricus sp.); la extracción se efectúa en aparato Soxhlet con hexano:acetona (40:60) (III-2.2).

Todas estas muestras, excepto el agua, se purifican por cromatografía de adsorción en columna de Florisil, empleando como eluyente 200 ml. de una mezcla de hexano:éter (90:10) (III-3.3).

El resto de las muestras (Barbos (Barbus barbus), bogas (Chondrostoma polylepis), sapo (Bufo bufo) y natrinx (Natrix sp.)), se extraen con hexano en aparato Soxhlet (III-2.2) y se purifican, primeramente con un reparto entre hexano:acetonitrilo (III-3.2) y posteriormente por cromatografía de adsorción en columna de Florisil empleando 200 ml. de hexano:éter (90:10) como eluyente (III-3.3).

Gironella (a).

Agua: 850 ml.

Suelo: 100 g. (19,8 % de humedad)

Lombriz de tierra (Lumbricus sp.): 3,22 g.

Barbos (Barbus Barbus): se extraen enteros

1er. ejemplar: hembra con un peso de 34,2 g.

2º. ejemplar: macho con un peso de 28,5 g.

3º. ejemplar: hembra con un peso de 36,2 g.

4º. ejemplar: macho con un peso de 40,2 g.

Bogas (Chondrostoma polylepis): también se extraen enteros.

1er. ejemplar: macho con un peso de 40,0 g.

2º ejemplar: macho con un peso de 65,0 g.

En la tabla siguiente se expresan, en ppm, los contaminantes encontrados en este punto de muestreo.

TABLA 54.- Contaminantes, en ppm, hallados en las muestras tomadas en Gironella.

Muestras.	α -HCH	Lindano	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT
Agua	<0,00001	0,0001	<0,00001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0005
Suelo	0,05020	0,0700	0,83500	2,8600	0,0500	0,0480	0,6060
Lombriz de tierra	0,10000	0,3500	0,38000	0,9430	0,2420	0,9620	0,6630
1º	0,01720	0,0136	0,02800	0,0163	0,5110	0,2130	0,2280
2º	0,02100	0,0070	0,04700	0,0075	0,6820	0,2080	0,3220
3º	<0,00001	<0,00001	0,04200	<0,0001	0,6000	0,1070	0,2610
4º	<0,00001	<0,00001	0,04100	<0,0001	0,5420	0,0220	0,3230
Bogas							
1º	0,03010	0,0100	0,19300	0,0100	0,3610	0,1390	0,1930
2º	0,06600	0,0106	0,11600	<0,0001	0,7910	0,1070	0,0840

Desembocadura del Cordoner (b).

Esta zona se divide en dos: antes de la desembocadura de dicho --
afluente y después de ella.

En la primera se toman las siguientes muestras:

Agua: 750 ml.

Suelo: 100 g. (20,1% de humedad).

Lombriz de tierra (Lumbricus sp.): 2,1 g.

Sapo (Bufo bufo): macho con un peso de 47,0 g.

Culebra de agua (Natrix sp.): peso 2,1 g.

TABLA 55.- Contaminantes, en ppm, encontrados en las muestras tomadas antes de la desembocadura del Cardoner.

Mues- tras.	α -HCH	Lindano	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT
Agua	<0,00001	<0,00001	<0,00001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0005
Suelo	(a)	(a)	(a)	<0,0001	0,0400	0,0470	0,0380
Lombriz de tierra	0,05400	0,19200	0,03600	0,0410	0,0800	0,3720	0,7500
Sapo	0,00650	0,00440	0,01100	0,0070	0,0383	0,1040	0,0910
Culebra	0,05000	0,50200	0,175000	<0,0001	4,8710	1,9600	2,6400

(a) Los picos están solapados por la presencia de azufre.

Después del Cardoner se toman las siguientes muestras:

Agua: 375 ml.

Suelo: 100 g. (21,1 % de humedad).

Lombriz de tierra (Lumbricus sp.): 0,6 g.

En la tabla 56, se indican los contaminantes hallados en estas muestras.

TABLA 56.- Contaminantes, en ppm, hallados en las muestras tomadas después del Cardoner.

Muestras.	α -HCH	Lindano	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT
Agua	<0,00001	0,0003	<0,00001	0,0013	<0,0001	0,0050	<0,0005
Suelo	(a)	(a)	(a)	0,0110	0,0240	0,0330	0,3030
Lombriz de tierra	0,35800	0,5770	<0,00001	0,3580	<0,0001	0,8400	1,8570

(a) Los picos están solapados por la presencia de azufre.

Martorell (c).

Agua: 1.215 ml.

Suelo: 100 g (16 % de humedad).

TABLA 57.- Contaminantes, en ppm, encontrados en las muestras tomadas en Martorell.

Muestras.	α -HCH	Lindano	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT
Agua	0,00014	<0,00001	0,0140	0,0130	<0,0001	<0,0001	<0,0005
Suelo	(a)	(a)	0,0230	0,0050	0,0300	0,0530	0,1550

(a) Los picos están solapados por la presencia de azufre.

Prat de Llobregat (d).

Agua: 835 ml.

Suelo: 100 g. (13,5 % de humedad)

Lombriz de tierra (Lumbricus sp.): 4,7 g.

TABLA 58.- Contaminantes, en ppm, hallados en las muestras tomadas en Prat de Llobregat.

Mues- tras.	α -HCH	Lindano	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT
Agua	0,00015	0,00016	<0,00001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0005
Suelo	(a)	(a)	(a)	0,0070	0,0430	0,1010	0,3130
Lombriz de tierra	0,17200	0,30400	0,09000	0,2200	0,6000	1,2000	0,9200

(a) Los picos están solapados por la presencia de azufre.

3.2. SEGUNDO MUESTREO (Mayo 1970).

Parte de las deficiencias que se habían notado en el anterior muestreo se lograron subsanar en este segundo. Se hace constar que debido a un transporte defectuoso, las muestras de agua de los puntos siguientes: Poble de Lillet, Castelbell y Villar y Prat de Llobregat se perdieron totalmente, a causa de que los recipientes no aguantaron las bajas temperaturas de la nieve carbónica.

Los análisis se hicieron en todas las muestras con un aparato Perkin Elmer, modelo F-11, con detector de captura electrónica, electrodo concéntrico y fuente de Ni-63.

Columna de vidrio Pyrex convencional, con una mezcla de fases a base de 7,5 % de QF-1 (10.000 cst.) y 5 % de DC-200 - (12.500 cst.) sobre Varaport 30 de 80/100 mallas.

Gas portador: Nitrógeno a un flujo de 67 ml/min. Temperaturas: columna a 195º C, detector a 205º C e inyector a 215ºC.

Como en el caso anterior se van a describir brevemente los métodos utilizados en la extracción y purificación de las muestras con el objeto de no incurrir en una serie de repeticiones para cada punto:

Agua: extracción con mezcla de hexano:éter (90:10) (III 2.4)

Sedimento y suelo: se extraen en Soxhlet con una mezcla de hexano:acetona (40:60) (III - 2.3).

Lombriz de tierra (Lumbricus sp.) , caracol (Helix sp.) y lagartija (Lacerta sp.); se extraen con hexano:acetona (40:60) (III-2.2).

Estas muestras son sometidas a una purificación por cromatografía de adsorción en columna de Florisil utilizando dos eluyentes: 100 ml. de hexano y 200 ml. de hexano:éter (80:20) (III-3.3).

Las especies de peces y aves fueron extraídas en aparato - Soxhlet con hexano:acetona (40:60) (III - 2.2) y purificadas primeramente con un reparto entre hexano:acetonitrilo (III - 3.2) y -

mediante una cromatografía de adsorción en columna de Florisil con dos eluyentes: el 1º, con 100 ml. de hexano y el 2º, con - 200 ml. de hexano:éter (80:20) (III-3.3).

Pobla de Lillet (e).

Sedimento: 50 g.

Suelo: 50 g. (16,5 % de humedad).

Caracol (Helix sp.): se hacen extractos separados de la -- concha y del cuerpo; peso de las canchas: 10 g. del cuerpo: 26 g. Estos caracoles fueron capturados en vida activa.

Lagartija (Lacerta sp.): 10 g.

Autillo (Otus scops) 78,5 g.

Ruiseñor (Luscinia megarhynchos): 18,7 g.

Tarabilla común (Saxicola torquata) : macho de 14,5 g.

Tres serines (Serinus serinus): con un peso medio de 10,5 g.

En la tabla 59 se expresa en ppm la contaminación hallada en las muestras tomadas en este punto.

TABLA 59.- Contaminantes, en ppm, encontrados en Pobl de Lillet.

Mues- tras.	α -HCH	Linda- no.	Hepta- cloro.	Aldrín	Dieldrín	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
Sedimen- tos	0,003	0,0052	<0,0001	--	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,050
Suelo	0,006	0,0030	<0,0001	<0,00001	<0,0001	0,0067	<0,0001	<0,0005	0,091
Lombriz	0,015	0,0860	0,0100	0,00400	0,0050	0,0300	0,0280	0,0260	0,360
Caracol concha	0,030	0,2700	<0,0001	0,00110	<0,0001	<0,0001	0,0070	<0,0005	0,280
cuerpo	0,095	0,0005	<0,0001	0,00200	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,076
Lagartija	0,010	0,1200	<0,0001	0,00600	0,0030	0,1100	0,0090	0,0090	0,140
Autillo	<0,00001	0,023	0,0200	--	0,100	0,600	<0,0001	<0,0005	0,74
Ruiseñor	<0,00001	0,091	--	--	<0,0001	0,130	<0,0001	<0,0005	<0,005
Tarabilla	<0,00001	0,050	0,060	--	<0,0001	0,980	<0,0001	<0,0005	1,350
Serín	0,0190	0,033	0,044	--	--	<0,0001	<0,0001	<0,0005	<0,005

Heptacloro epóxido en el autillo con un nivel de 0,030 ppm, en la lagartija de 0,007 ppm, trazas (<0,0001) en suelo, sedimento lombriz de tierra, serín y tarabilla. El o,p'-DDT en forma de trazas (<0,0005) en lombriz y lagartija.

Gironella (f).

Agua: 400 ml.

Sedimento: 50 g.

Suelo: Se toman dos suelos, el primero que coincide con el tomado en el -- muestreo anterior y el nuevo, de una alameda a unos 200 m. de distancia.

Suelo 19: 100 g. (21,8 % de humedad)

Suelo 29: 100 g. (20,5 % de humedad).

Lombriz de tierra (Lumbricus sp.): se toman dos muestras que coinciden con los dos suelos anteriores, con un peso de 7 g. y 27 g. respectivamente. La abundancia y tamaño de las lombrices era muy superior en el segundo suelo, comparado con el primero.

Barbo (Barbus barbus):

1º. ejemplar: macho de 8 cm. de longitud, 1 a 1,5 años y 13 g. de peso.

2º. ejemplar: hembras, 16 cm. de longitud, 1,5 a 2 años y 44,5 g. de peso.

TABLA 60.- Contaminantes, en ppm, hallados en las muestras de Gironella.

Muestras.	α -HCH	Lindano	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT	PCB
Agua	<0,00001	<0,00001	<0,00001	--	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,05
Sedimento.	0,00400	0,00300	--	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,12
Suelo 1º	0,00140	0,00140	0,07300	0,0027	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,03
Suelo 2º	0,00450	0,00360	<0,00001	<0,0001	0,0060	0,0060	<0,0050	0,13
Lombriz 1º	0,0240	0,01700	0,03700	0,010	0,0160	0,0330	0,0370	0,30
Lombriz 2º	0,0090	0,00600	0,00200	0,003	0,0200	0,0280	0,0120	0,28
Barbo 1º	0,0400	0,03000	<0,00001	0,027	0,3800	0,1000	0,0340	1,03
Barbo 2º	0,0640	<0,00001	--	<0,0001	0,9900	<0,0001	<0,0005	2,72

El heptacloro se encuentra en forma de trazas (<0,0001) en el suelo, sedimento y lombriz, el o,p'-DDT trazas (<0,0005) en suelo y lombriz).

San Vicente del Castellet (g).

Agua: 1.400 ml.

Suelo: 100 g. (13 % de humedad).

Caracol (helix sp.): se hacen extractos separados de la concha y del cuerpo. Peso de las conchas: 2,7 g., peso de los cuerpos: 4,4 g. Fueron capturados en vida latente.

En este punto se tomaron unos peces muertos, aunque en realidad había una gran cantidad:

Carpa (Cyprinus carpio): dos ejemplares.

1º. ejemplar: hembra, de 18 cm. de longitud, 1,5 a 2 años y 85 g. de peso. Extrayéndose 13 g. de músculo lateral y 16 g. de vísceras (tubo digestivo y glándulas anejas).

2º. ejemplar: hembra, 37 cm. de longitud, 4 años y 851 g. de peso. De la que se extrajo 15 g. de músculo, 63 g. de vísceras y 30 g. de gónadas.

Barbo (Barbus barbus): un ejemplar de 22 cm. de longitud, 2 a 2,5 años y 137 g. de peso, extrayéndose 18 g. de músculo y 12,4 g. de vísceras.

Boga (Chondrostoma polylepis): dos ejemplares:

1º ejemplar: 17 cm. de longitud, 1 a 1,5 años, 57 g. de peso, de la que se extrajo 18 g. de músculo y 5 g. de vísceras.

2º ejemplar: 7 cm., 1 año, 7 g. de peso, se extrajo entera.

TABLA 61.- Contaminantes, en ppm, encontrados en las muestras de San Vicente del Castellet.

Muestras	α -HCH	Lindano	Aldrín	Diel- drín.	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
Agua	<0,00001	<0,00001	<0,00001	--	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,038
Suelo	0,0053	0,0022	0,0030	0,0010	<0,0001	0,0090	<0,0005	0,100
Caracol concha	0,0110	0,0850	0,0070	<0,0001	0,0310	0,0210	<0,0005	1,36
cuerpo	0,0150	0,0630	0,0110	<0,0001	0,0250	0,0140	<0,0005	0,74
Carpa 1ª								
músculo	0,0120	0,0900	0,0140	0,0180	0,2700	0,0600	<0,0005	0,77
vísceras	0,0300	0,0050	<0,00001	0,0400	0,3400	0,0800	<0,0005	0,88
Carpa 2ª								
músculo	<0,00001	0,1000	<0,00001	0,0260	0,2200	0,2200	<0,0005	1,00
vísceras	0,02000	<0,00001	<0,00001	0,0001	0,2000	0,1400	<0,0005	1,10
gónadas	0,03800	<0,00001	--	0,0200	0,2600	0,1600	<0,0005	1,60
Barbo								
músculo	<0,00001	<0,00001	--	0,0020	0,1600	0,0630	<0,0005	0,51
vísceras	0,07000	<0,00001	<0,00001	0,066	0,7000	0,2900	0,0320	2,70
Boga								
músculo	0,016	<0,00001	<0,00001	0,040	0,220	0,100	0,0300	1,42
vísceras	0,084	<0,00001	<0,00001	0,052	0,920	0,140	<0,0005	3,70
Boga 2ª	<0,00001	<0,00001	<0,00001	0,030	0,210	0,045	<0,0005	1,00

Heptacloro en forma de trazas (<0,0001) en suelo y caracol. o,p'-DDT también en forma de trazas (<0,0005) en el suelo y peces.

Castelbell y Villar (h).

Agua: 1.000 ml.

Sedimento: 50 g.

Suelo: se toman dos tipos de suelo, el primero agrícola, 100 g. con un 11,5 % de humedad, y el segundo cerca de la orilla y a unas 100 m. - del primero, extrayéndose sólo 50 g. y con 21,5 % de humedad.

Lombriz de tierra (Lumbricus sp.), pertenecientes al segundo suelo, con un peso de 2,5 g.

Caracol (Helix sp.): como en los casos anteriores, se separa la -- concha del cuerpo y se hacen extractos diferentes; peso de las conchas: 20 g., de los cuerpos: 25 g. Fueron capturados en vida latente.

Barbo (Barbus barbus): un ejemplar vivo, hembra, 8 cm. de longitud, 1 año y 13 g. de peso y dos ejemplares muertos, en franca descomposición, con un peso de 44 g.

Buscarla (Locustella lusciniodes): 13 g.

TABLA 62.- Contaminantes en ppm, hallados en las muestras de Castelbell y Villar.

Muestras	α -HCH	Lindano	Aldrín	Diel- drín.	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
Agua	<0,00001	<0,00001	0,0010	--	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,033
Sedimento	0,00200	<0,00001	--	<0,0001	<0,0001	0,0090	<0,0005	0,15
Suelo 1º	0,00710	0,00120	0,1750	0,0050	0,0280	0,0066	<0,0005	0,28
Suelo 2º	0,00240	0,00180	0,0026	0,0031	<0,0001	0,0066	<0,0005	0,07

TABLA 61.- (Continuación).

Muestras	α -HCH	Lindano	Aldrín	Diel- drín.	p,p'- DDE	p,p'- TDE	p,p'- DDT	PCB
Lombriz 2º	0,05600	0,21000	0,0120	0,0080	0,0600	0,1600	0,0520	1,05
Caracol								
concha	0,00300	0,00300	<0,00001	0,0020	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,05
cuerpo	0,00800	<0,00001	<0,00001	<0,0001	0,0060	<0,0001	<0,0005	0,07
Barbo								
muerto	0,07000	<0,00001	<0,00001	<0,0001	0,7000	<0,0001	<0,0005	1,56
Barbo								
vivo	0,04300	0,02100	<0,00001	0,0280	0,3200	0,0570	<0,0005	1,12
Buscarla	<0,00001	<0,00001	--	<0,0001	0,3100	<0,0001	<0,0005	4,26

Heptacloro en forma de trazas (<0,0001) en sedimento, suelos, lombriz y caracol, en la buscarla de un nivel de 0,040 ppm. Heptacloro epóxido (<0,0001) en sedimento, suelo 1º y buscarla, en suelo 2º un nivel de 0,0050 ppm. o,p'-DDT - (<0,0005) suelos, lombriz y peces.

Prat de Llobregat (I).

Sedimento: 50 g.

Suelo: 100 g. (9,7 % de humedad)

Lombriz de tierra (Lumbricus sp.): 1 g.

Caracol (Helix sp.): separando la concha, con un peso de 9 g. y el cuerpo con un peso de 8 g. Capturados en vida latente.

Lagartija (Lacerta sp.) : 5 g.

Gorrión (Passer domésticus): hembra de 26,9 g.

TABLA 63.- Contaminantes, en ppm, encontrados en las muestras de Prat de Llobregat.

Muestras	α -HCH	Lindano	Aldrín	Dieldrín.	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT	PCB
Sedimento	<0,00001	<0,00001	--	<0,0001	<0,0001	0,020	<0,0005	0,65
Suelo	0,00170	0,00110	<0,00001	<0,0001	<0,0001	0,006	<0,0005	0,07
Lombriz	0,16000	0,45000	0,02500	0,2000	0,2700	0,420	0,1000	6,27
Caracol								
concha	0,00600	0,06000	0,00230	0,0032	0,0150	0,040	0,0230	0,36
cuerpo	0,01700	0,10000	0,00800	0,0080	0,0180	0,038	0,0300	0,50
Lagartija	0,00700	0,03000	0,02500	0,0800	0,1500	0,040	0,0400	1,12
Gorrión	<0,00001	0,01000	--	0,0400	0,1800	<0,0001	<0,0005	0,31

Heptacloro, trazas en todas las muestras (<0,0001) excepto el gorrión que tiene 0,021 ppm; heptacloro epóxido <0,0001 en sedimento, suelo y gorrión, en lagartija 0,009 ppm. El o,p'-DDT en forma de trazas (<0,0005) en suelo, lombriz y lagartija.

4.- SIGNIFICADO BIOLOGICO DE LOS NIVELES DE RESIDUOS ENCONTRADOS EN LA CUENCA DEL RIO LLOBREGAT.

El medio ecológico de un río es extremadamente variable y complejo, oscila el contenido de agua y de sus sales disueltas. En el caso de Llobregat, estas variaciones son muy grandes, pues se trata de un río mediterráneo, casi una rambla, con el agravante, al menos desde el punto de vista biológico, de poseer cerca de uno de sus afluentes, el Cardoner, las minas de Suria y Cardona. Las-

temperaturas son muy variables y el tipo de vida alcanza a toda la escala filogenética, por lo que no se puede decir, según Cope (68), que existe algún cuerpo "típico" no contaminado, que se encuentre en un medio de agua dulce.

Los compuestos más representativos en los dos muestreos son: ciclo--diénicos y DDT, en el segundo se van a analizar también los PCB, que pudieron ser calculados cuantitativamente.

TABLA 64.- Niveles medios, en ppm, de ciclodienicos y DDT en las muestras - del primer muestreo del rio Llobregat (Abril-1969).

Muestras y Localidades	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT
<u>Agua</u>					
Gironella	<0,00001	0,00026	<0,00010	0,00022	0,00032
Antes del Cardoner	<0,00001	0,00045	<0,00010	0,00100	0,00074
Después del Cardoner	<0,00001	0,00130	<0,00010	0,00460	0,00190
Martorell	0,01400	0,01300	<0,00010	0,00150	0,00100
Prat de Llobregat	0,00006	0,00050	0,00016	0,00060	0,00056
<u>Suelo</u>					
Gironella	0,83000	2,86000	0,05000	0,04800	0,60600
Antes del Cardener	(a)	<0,00010	0,04200	0,04700	0,03800
Después del Cardoner	(a)	0,01100	0,02400	0,03300	0,30300
Martorell	0,02300	0,00500	0,03000	0,05300	0,15500.
Prat de Llobregat	(a)	0,00700	0,04300	0,10100	0,31300
<u>Lombriz</u>					
Gironella	0,38000	0,94300	0,24200	0,96200	0,66300
Antes del Cardoner	0,03600	0,04100	0,08000	0,37200	0,75000
Después del Cardoner	-	0,35800	0,00010	0,84000	1,85000
Prat de Llobregat	0,09000	0,22500	0,60000	1,20000	0,92800
<u>Barbo</u>					
Gironella	0,04000	0,0060	0,6000	0,1900	0,2800

TABLA 64.- (Continuación).

Muestras y Localidades	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT
<u>Boga</u>					
Gironella	0,15000	0,0050	0,5700	0,1230	0,1380
<u>Sapo</u>					
Antes del Cardoner	0,01100	0,0070	0,0480	0,1040	0,0910
<u>Culebra</u>					
Antes del Cardoner	0,17500	<0,0001	4,6710	1,9500	2,6400

(a) Los picos de azufre solapan con los picos de aldrín.

La figura 11 muestra unas gráficas de los contaminantes hallados en este primer muestreo.

En la tabla 65 se exponen los resultados medios para el segundo muestreo.

TABLA 65.- Niveles medios, en ppm, encontrados en el segundo muestreo del -
rio Llobregat (Mayo - 1970).

Muestras y Localidades	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT	PCB
<u>Agua</u>						
Gironella	<0,00001	-	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,05
S. Vicente Castellet	0,00004	-	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,04
Castelbel y Villar	0,00011	-	<0,0001	<0,0001	<0,0005	0,03

../..

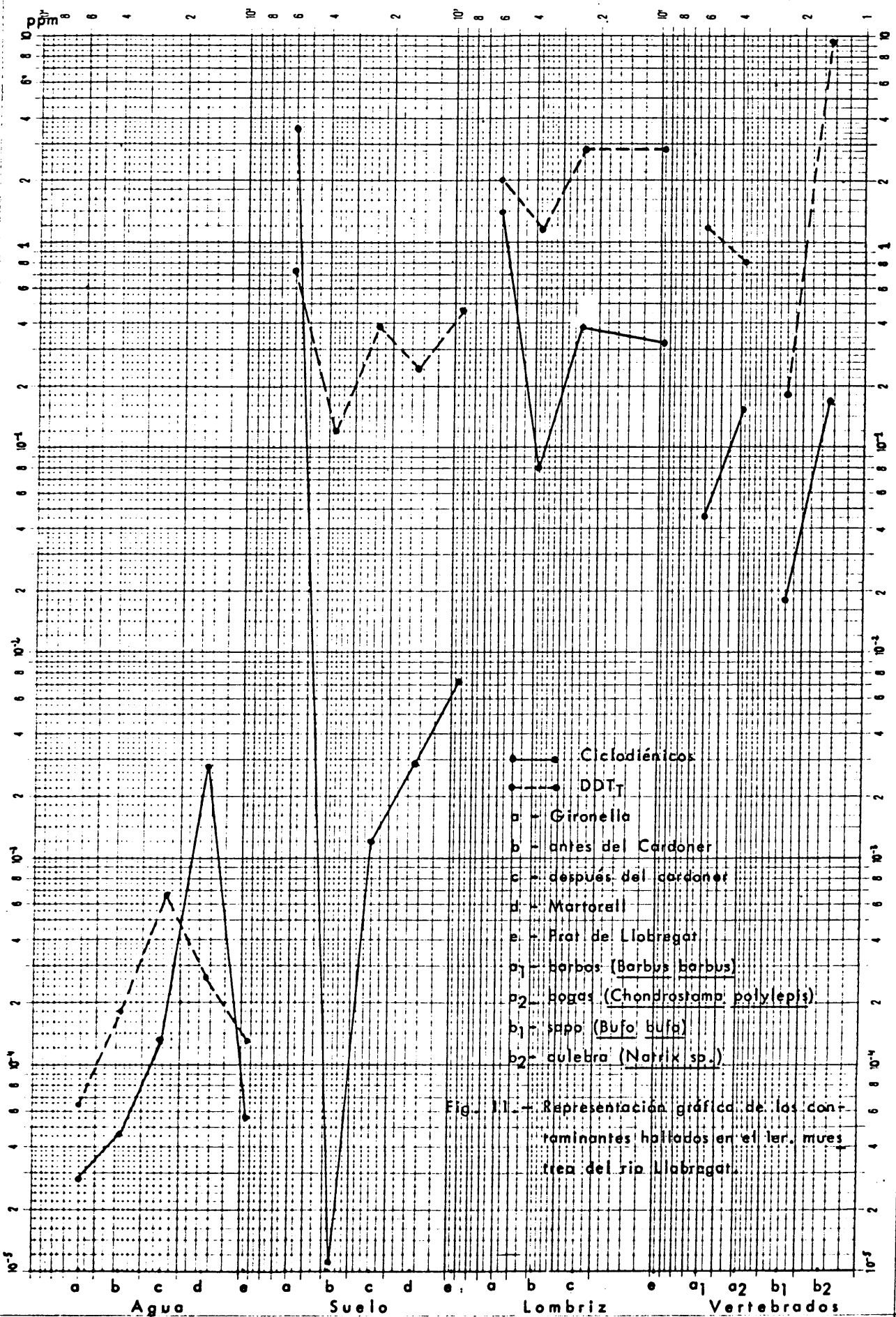


Fig. 11.- Representación gráfica de los contaminantes hallados en el ter. muestra del río Llobregat.

TABLA 65.- (Continuación)

Muestras y Localidades	Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT	PCB
<u>Sedimento</u>						
Pobla de Lillet	(a)	<0,0001	<0,0001	0,0041	<0,0005	0,05
Gironella	(a)	<0,0001	<0,0001	0,0052	<0,0005	0,12
Castelbell y Villar	(a)	<0,0001	<0,0001	0,0090	<0,0005	0,15
Prat de Llobregat	(a)	<0,0001	<0,0001	0,0200	<0,0005	0,65
<u>Suelo</u>						
Pobla de Lillet	<0,00001	<0,0001	0,0067	<0,0001	<0,0005	0,09
Gironella 1º	0,07300	0,0027	0,0028	0,0010	0,0013	0,03
Gironella 2º	<0,00001	0,0001	0,0057	0,0058	0,0055	0,13
S. Vicente Castellet	0,00300	0,0012	<0,0001	0,0091	<0,0005	0,10
Castebell y Villar 1º	0,17500	0,0047	0,0280	0,0060	<0,0005	0,28
Castebell y Villar 2º	0,00260	0,0031	0,0014	0,0066	<0,0005	0,07
Prat de Llobregat	<0,00001	<0,0001	<0,0001	0,0066	<0,0005	0,07
<u>Lombriz</u>						
Pobla de Lillet	0,00400	0,0050	0,0300	0,0280	0,0260	0,36
Gironella 1º	0,03700	0,0100	0,0160	0,0330	0,0370	0,30
Gironella 2º	0,00240	0,0032	0,0200	0,0280	0,0120	0,28
Castelbell y Villar 2º	0,01200	0,0080	0,0600	0,1600	0,0520	1,05
Prat de Llobregat	0,02500	0,2000	0,2700	0,4200	0,1000	6,20
<u>Caracoles</u>						
Pobla de Lillet	0,0130	<0,0001	0,0086	0,0130	<0,0005	0,35
S. Vicente Castellet	0,0180	<0,0001	0,0560	0,0350	<0,0005	2,10
Castelbell y Villar	<0,00001	0,0020	0,0090	0,0066	0,0006	0,12
Prat de Llobregat	0,00100	0,0011	0,0033	0,0780	0,0530	0,86
<u>Lagartija</u>						
Pobla de Lillet	0,00600	0,0030	0,1100	0,0085	0,0090	0,14
Prat de Llobregat	0,02500	0,0800	0,1500	0,0400	0,0400	1,12
<u>Peces</u>						
Gironella	<0,00001	0,0140	0,6800	0,0500	0,0170	1,37
S. Vicente Castellet	0,00230	0,0600	0,7200	0,2700	0,0150	2,96
Castelbell y Villar	<0,00001	0,0140	0,5000	0,0300	<0,0005	1,34

TABLA 65.- (Continuación)

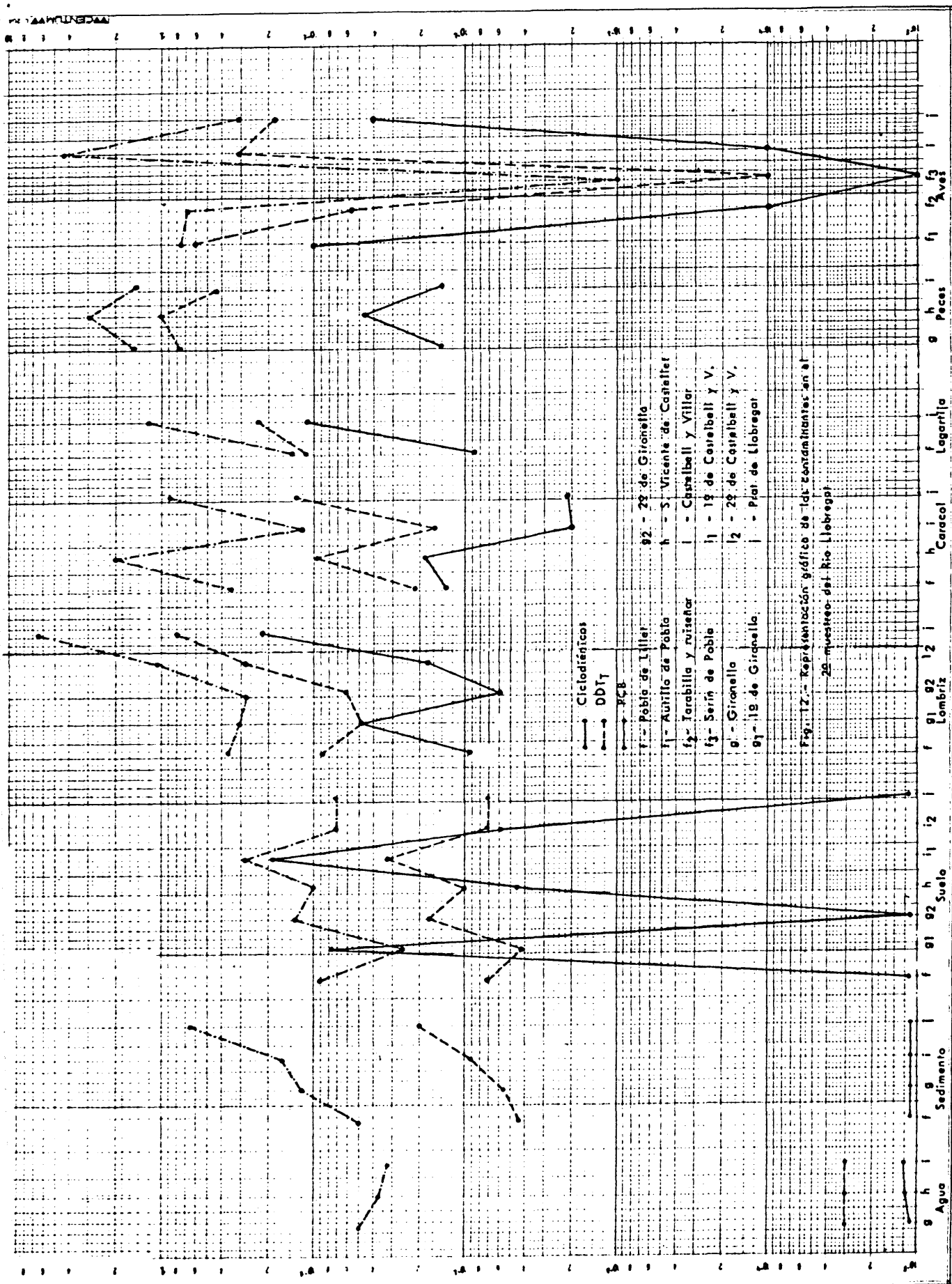
Muestras y Localidades		Aldrín	Dieldrín	p,p'-DDE	p,p'-TDE	p,p'-DDT	PCB
<u>Aves</u>							
Pobla de Lillet	(Autillo)	--	0,1000	0,6000	0,0001	0,0005	0,74
	(Ruiseñor y Tabarilla)	--	0,0001	0,5500	0,0001	0,0005	0,67
	(Serín)	--	--	0,0001	0,0001	0,0005	0,001
Castelbell	(Buscarla)	--	0,0001	0,3100	0,0001	0,0005	4,26
Prat	(Gorrión)	--	0,0400	0,1800	0,0001	0,0005	0,31

(a) Los picos de azufre solapan con el aldrín.

La figura 12 muestra las gráficas correspondientes al segundo muestreo.

La contaminación presente en el agua de todas las zonas muestreadas contiene los niveles del orden de trazas, en algún caso como Martorell, en el primer muestreo, el nivel de ciclodiénicos es francamente alto y puede ser debido a una descarga fortuita producida probablemente por arrastres debidos a las lluvias torrenciales características de la región.

Estos niveles, los hallados en los constituyentes abióticos, se van a ver reflejados en las especies animales que viven sobre ellos. Con objeto de evitar las repeticiones, cuando una localidad se haya muestreado en dos ocasiones, se diferenciarán por la letra entre paréntesis, tal como están descritos en el apartado de resultados (V, 3.1 y 3.2).



Pobla de Lillet, situada a muy poca distancia del nacimiento del río (unos 4 Km.), es uno de los puntos donde hay más variación de muestras, con respecto a especies no a número, por lo que las relaciones que se obtienen pueden parecer algo excesivas.

Lombriz/suelo	Ciclodiénicos	= 82,0
	DDT _T	= 11,0
	PCB	= 4,0
Caracol/suelo	Ciclodiénicos	= 120,0
	DDT _T	= 3,0
	PCB	= 4,0
Insectívoros/lombriz	Ciclodiénicos	= 0,012
	DDT _T	= 6,5
	PCB	= 1,8
Autillo/Insectívoro	Ciclodiénicos	= 100.000 ^(x)
	DDT _T	= 1,1
	PCB	= 1,8

El dato más espectacular de los que se encuentran es, — precisamente, el que el autillo contenga 10^5 veces más ciclodiénicos que las aves insectívoras, el hecho puede explicarse dado que esta especie se alimenta casi exclusivamente de insectos, roedores y pequeñas aves y estos últimos de vegetales en general. Si se observan — las relaciones entre caracol/suelo y lombriz/suelo, 120 y 82 respecti-

(x) Resultado no representativo.

vamente son elevadas para ciclodiénicos, pues el caracol se alimenta de plantas y la lombriz tamiza el suelo, y estos insecticidas son absorbidos por algunas plantas, lo cual puede explicar esta proporción tan elevada. El resto de las relaciones muestra los límites esperados, excepto insectívoros/lombriz que es muy bajo, debido a que las especies capturadas son migrantes, y la captura fué probablemente cuando hacía poco tiempo que habían llegado.

La cantidad de ciclodiénicos en los peces de Gironella es 250 y 700 veces superior a lo encontrado en el agua; el grupo del DDT es de 1.700 y 1.000 veces superior, para el primer y segundo muestreo respectivamente. Los PCB muestran un nivel de solamente 27 veces más en los peces que en el agua.

Las tasas tan elevadas que se encuentran en el suelo de Gironella (a) es debido a su naturaleza de barbecho, probablemente preparado para sembrar en poco tiempo. Las lombrices se encontraban muy profundas y apenas si se observaba indicios de actividad. El peso de las lombrices de este suelo en el primer muestreo fué de 3,22 gr. y en el segundo, para un número semejante de ejemplares, fué de 7,0 gr.

La relación lombriz/suelo para este punto es:

1er. muestreo	:	ciclodiénicos	=	0,36
	:	DDT _T	=	2,60
2º. muestreo	:	ciclodiénicos	=	0,62
	:	DDT _T	=	123
	:	PCB	=	12

Se observa como aumenta la acumulación, tanto de ciclodiénicos como DDT, sobre todo de éste último.

En Gironella (f) se tomó suelo y lombriz de otra zona para poder efectuar comparaciones con respecto a las citadas muestras; en este caso la relación lombriz/suelo es la siguiente:

Ciclodienicos	=	45,4
DDT _T	=	3,5
PCB	=	2,1

Teniendo en cuenta que este suelo pertenecía a una alameda es posible que su cantidad de DDT fuese elevada y no hubiesen acumulado lo suficiente; en cambio en ciclodiénicos la acumulación es notable, indicando la posibilidad de tratamientos anteriores.

La zona que coincide aproximadamente con la mitad del recorrido del rio (los puntos de muestreo siguientes: antes y después de la desembocadura del Cardoner y San Vicente del Castellet) presentan unas relaciones interesantes:

Antes del	Lombriz/suelo : Ciclodienicos	=	770
Cardoner (b)	DDT _T	=	10
Después del	Lombriz/suelo : Ciclodienicos	=	32,5
Cardoner (b)	DDT _T	=	7,5

La actividad de las lombrices era escasa y hubo que buscarlas muy profundas. Antes de la desembocadura se capturó un sapo y -

una culebra de agua, la dirección en la escala trófica está bien definida, y aunque la época era muy temprana (Abril), parecían de haber salido del letargo invernal hacía poco tiempo; el sapo se encontraba en época reproductora y la culebra muy activa. La relación -- entre culebra/sapo es la siguiente: ciclodiénicos = 1,8; DDT_T = 40.

San Vicente del Castellet (g); zona en la que se encontró una gran cantidad de peces muertos, el cociente peces/agua es de unas 1.500 veces en ciclodiénicos, 1.400 para el DDT_T y 74 para los PCB.

En Castelbell y Villar la relación lombriz/suelo y peces/agua ha resultado ser la siguiente:

Lombriz/suelo	Ciclodiénicos	= 3,5
	DDT_T	= 32
	PCB	= 15
Peces/agua	Ciclodiénicos	=350
	DDT_T	=757
	PCB	= 44,6

En Prat de Llobregat también se han realizado dos muestreos y pueden relacionarse, principalmente, lombriz/suelo :

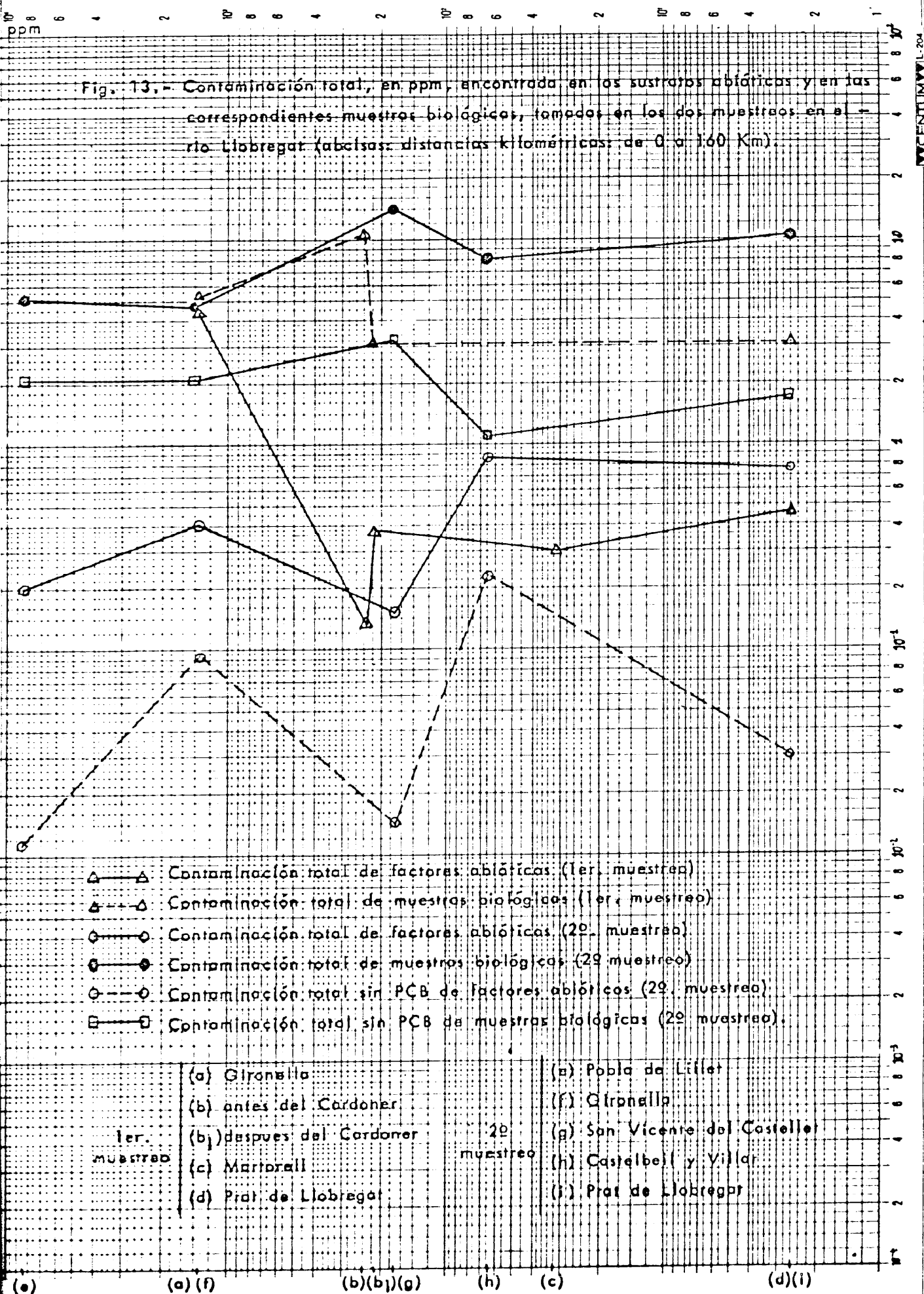
Lombriz/suelo (1er. muestreo)	Ciclodiénicos	= 45
	DDT_T	= 5,9
Lombriz/suelo (2º. muestreo)	Ciclodiénicos	=2.000
	DDT_T	= 111
	PCB	= 88,5

Después de haber expuesto comparativamente los datos de la contaminación encontrada a lo largo del río Llobregat, con respecto a las diferentes especies de animales que se han capturado, interesa analizar la contaminación hallada con respecto al total de los factores abióticos en relación con las muestras biológicas. Estas relaciones se encuentran representadas en la figura 13, en la que se muestran en ordenadas las proporciones en ppm y en abcisas las localidades situadas aproximadamente según las distancias kilométricas a que se encuentran entre sí.

En esta gráfica se observa la proporcionalidad entre zonas muy poco contaminadas con respecto a los factores abióticos y las elevadas tasas que, en cambio, presentan los factores bióticos de las siguientes zonas; este hecho parece lógico, dado que, los seres vivos acumulan los productos que se encuentran en los sustratos que habitan. Asimismo, aparece otro dato que tiene importancia desde el punto de vista analítico, consistente en el hecho de que en el segundo muestreo, al descontar la cantidad de PCB del total, la curva ésta descende mucho, aunque se mantiene con un alto grado de paralelismo, lo que da un gran margen de confianza a los métodos analíticos; esta misma observación hace suponer que en el primer muestreo no se descontaron totalmente los PCB por el tratamiento nitrosulfúrico, con lo cual la posibilidad expresada por Reynolds (31) sobre esta prueba adquiere más veracidad (x). La otra posibilidad es muy simple: que en el primer muestreo la cuenca se encontrase más contaminada.

(x) Reynolds en el citado trabajo no se muestra de acuerdo con lo indicado por Jensen y Widmark (21), sobre la casi absoluta seguridad del tratamiento nitrosulfúrico, indicando que tanto los PCB como los insecticidas, en determinadas condiciones, pueden ser o no ser atacados por esta mezcla indistintamente. Hay que considerar, además que en un extracto biológico el problema se agudiza por la enorme cantidad de probables componentes que pueden ser atacados y transformados a su vez en productos que den señal en captura electrónica.

Fig. 13.- Contaminación total, en ppm, encontrada en los sustratos abióticos y en las correspondientes muestras biológicas, tomadas en los dos muestreos en el río Llobregat (abscisas: distancias kilométricas de 0 a 160 Km).



PARTE VI.

=====

CONCLUSIONES.-

A lo largo de esta Memoria se han planteado las tres cues
tiones fundamentales siguientes:

- a).- Importancia de la puesta a punto de metodologías bá--
sicas para la extracción, purificación y análisis cuali
y cuantitativo de insecticidas órganoclorados y pro--
ductos estructuralmente relacionados.
- b).- Repercusión de los tratamientos con plaguicidas, en --
sentido amplio, sobre los seres vivos y, por extensión,
sobre los ecosistemas.
- c).- Sobre la base anterior, se estudia la cuenca del río -
Llobregat, con el fin de interrelacionar una de las de_
nominadas vías rápidas de propagación residual, no só-
lo a lo largo de dicho río, sino también a la zona lito_
ral correspondiente del Mediterráneo, que puede servir
como pauta para otros sistemas fluviales semejantes.

De las cuestiones planteadas y estudiadas se obtienen las -
conclusiones siguientes:

1ª.- En relación a las metodologías se llega al conocimien_
to de que los sistemas de extracción y purificación han dado en ge-

neral, los resultados adecuados y, consecuentemente, esperados. El análisis por cromatografía gas-líquido ha presentado casos de resolución compleja, pero su estudio ha permitido aportar nuevos datos, — principalmente, en los que respecta a la utilización de columnas; se ensayó una amplia gama de fases líquidas, tales como Apiezon L, — DC-200, Oronita polibuteno-128, OV-17 y QF-1 (orden creciente de polaridad), usadas en forma unitaria (Apiezon L y DC-200) y en mezcla (Oronita polibuteno-128 y QF-1, OV-17 y QF-1 y DC-200 y QF-1), deduciéndose que las columnas idóneas, tanto en separación como en linealidad de respuesta, para la resolución de los problemas referentes a insecticidas órganoclorados y análogos, contenidos en muestras industriales y biológicas fueron 10 % de DC-200 y 7,5 % QF-1/5 % DC-200, sobre Gas-Chrom Q y Chromosorb W, como fase unitaria y mezcla respectivamente. Estas columnas presentan, además, características importantes, tales como la baja carga de fase, que evita su agotamiento y las consecuencias que se derivan de éste y dados sus altos puntos de ebullición, la facilidad que supone trabajar a temperaturas de hasta 200°C, lo que da lugar a tiempos cortos de retención con las consiguientes ventajas de eluciones más limpias, mayor simetría de picos y un cálculo cuantitativo más exacto.

2ª.- Los niveles observados en las especies estudiadas indican, en el caso de los estorninos, una correspondencia entre las distintas zonas de captura, que relacionan dichas áreas con las cantidades encontradas: así en Navade la Cruz (zona montañosa y de escasos cultivos) se encontraron: 0,025, 0,020 y 0,004 ppm de residuos

de los grupos del hexaclorociclohexano (α -HCH y γ -HCH, principalmente), los derivados del 2,2 difeniletano (DDT, TDE y DDE) y -ciclodienico (aldrín, dieldrín y endrín) respectivamente.

En Riaza, zona más agrícola, se encuentran niveles superiores: 0,05, 0,1 y 0,006 ppm, para los mismos grupos de insecticidas. Estas cantidades pueden considerarse representativas para otras especies de aves omnívoras.

Los lucios comprenden, junto con los estorninos, el denominado medio continental, y, además, forman parte del último escalón trófico de la cadena constituida por los medios ecológicos de agua dulce. Las cantidades totales, excluidos los PCB, reflejan el índice de contaminación. Las cifras se expresan como las medias de los diferentes grupos de los productos analizados (hexaclorociclohexano, -ciclodienico y derivados de 2,2-difeniletano), de las diferentes zonas de captura: García Solá (11,4 ppm), Orellana (9,30 ppm), Buendía (2,70 ppm) y Santillana (2,10 ppm), que presentan un orden lógico, los dos primeros embalses situados en el curso medio del Guadiana (Plan Badajoz); en cambio Buendía y Santillana se encuentran en las cabeceras del Tajo y Manzanares respectivamente.

3ª.- Es indudable que la contaminación presente en las -- áreas del interior se va a ver reflejada, en menor proporción, dado que el volumen de agua es mucho mayor, y el reparto más amplio en las zonas costeras y por extensión en los mares. Este hecho se muestra característico, al observar los niveles de residuos en los litorales. Utilizando el mejillón como punto de partida, por su carácter sésil y -

microfágico, se obtienen los siguientes valores medios, determinados sobre los totales, también excluidos por PCB, de los grupos de insecticidas anteriormente citados, en orden decreciente: Barcelona -- (0,46 ppm), Delta del Ebro (0,36 ppm), Blanes (0,10 ppm), Santander (0,082), Castellón (0,070 ppm) y Vigo (0,051 ppm).

La sardina mantiene, en general una estrecha relación con los mejillones y sobre la base de un cálculo idéntico al anterior, se obtienen los siguientes valores medios: Barcelona (0,92 ppm), Palamós (0,91 ppm), Vigo (0,35 ppm), Castellón (0,20 ppm) y Santander (0,0077 ppm). Por último, en los que concierne a las especies marinas, las mielgas proporcionan los datos correspondientes a un predador típico, como lo demuestran los valores de 8,64 ppm y 2,37 ppm, en cifras totales órganoclorados, para Barcelona y Vigo respectivamente.

Todos estos datos permiten demostrar plenamente que el Mediterráneo se encuentra más contaminado, de tres a diez veces, que la zona Atlántico-Cantábrica.

4^a.-- La presencia de los niveles de plaguicidas en muchos animales, incluidos ciertos invertebrados marinos y de agua dulce, suponen un probable riesgo para ciertas especies, entre ellas algunas de importancia económica y comercial, utilizadas en la alimentación humana.

En nuestro caso todas las especies analizadas pueden tener una gran repercusión, directa o indirecta sobre el hombre. No es neu

cesario entrar en detalles sobre la influencia indirecta que poseen los seres vivos en la alimentación humana, por el hecho de estar incluidos dentro de algún ecosistema. En cambio se pueden analizar los factores que pueden afectarle con mayor facilidad, tales como - aquellas especies que entran a formar parte de la dieta humana - - con bastante frecuencia, y que en este caso son el mejillón y la sardina. Del primero sólo se puede presentar una zona que constituya interés, Vigo y para utilizar una referencia se exponen los datos obtenidos sobre Castellón (x).

Para las muestras de Vigo, el grupo de los ciclodiénicos - sobrepasa en 10 veces la ingestión máxima diaria aceptable por el - hombre; en cambio para Castellón, el mismo grupo de insecticidas supera las cifras tolerables en 130 veces. El grupo del DDT se man - tiene en los límites de tolerancia en las dos localidades (ver tabla 50).

La sardina constituye una de las bases de la alimentación - humana en cualquiera de las áreas muestreadas, y tomando a Barce - lona y Santander como zonas con mayor y menor contaminación, las relaciones obtenidas son: en ciclodiénicos 500 veces más en Barcelo - na y en el límite permisible para Santander; los niveles del grupo - del DDT en las sardinas, son inferiores a la ingestión máxima tolera - da en ambas zonas.

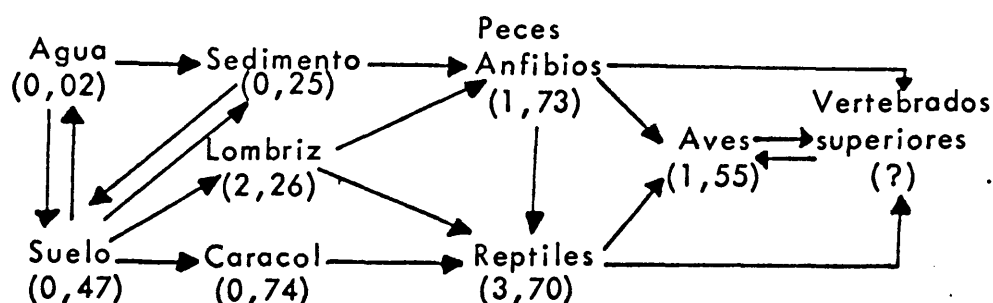
(x) Es preciso decir que en esta zona el mejillón no forma parte de la alimentación básica.

Las conclusiones anteriores dan entrada a las correspondientes al río Llobregat, que se resumen en las siguientes:

5ª.- Se observa una relación entre el entorno y los seres vivos, de forma que cuando aquel está más contaminado las especies animales que viven en él presentan un nivel más elevado de resíduos y éste sigue aumentando a medida que aquel se descontamina. Este es el caso del curso medio del río. Algunos autores (17) — han encontrado que la contaminación animal alcanza un límite residual que no es rebasado.

6ª.- Los microorganismos que forman la microflora y microfauna de sedimentos y suelos tienen gran repercusión sobre la transformación de estos contaminantes (69), (70) y (71); este hecho se encuentra reforzado al ver que en estos sustratos, las relaciones entre aldrin/dieldrín favorecen a este último; algo semejante ocurre en el caso DDT/TDE; en general se había supuesto que la transformación estaba favorecida hacia el DDE y esto se da fundamentalmente en seres pluricelulares. Sin embargo, hay que hacer constar que tanto el dieldrin como el TDE pueden utilizarse directamente en los tratamientos agrícolas.

7ª.- Se pueden establecer las rutas de la contaminación de una forma general, en el río Llobregat, mediante el siguiente esquema:



Las cifras entre paréntesis indican las medias de todos los contaminantes, en ppm, encontrados en las muestras obtenidas en el río.

Datos característicos y, que por las cifras que se presentan pueden parecer elevados, se encuentran en los reptiles, pero hay que tener en cuenta que son seres poiquilothermos, con un periodo de hibernación largo en el cual su metabolismo queda prácticamente suspendido.

8^a. - Las experiencias de laboratorio que han efectuado algunos autores (63), tienden a demostrar la importancia que poseen los PCB como contaminantes, en tanto en cuanto a su propia estructura química, que en principio parece inofensiva, aunque la toxicidad que los tipifica es debida a la presencia de trazas de policlorodibenzodioxinas y policlorodibenzofuranos que acompañan a las formulaciones técnicas.

Los efectos biológicos a que dan lugar son los siguientes: - cloracné y necrosis hepática en mamíferos, producida esta última por una inducción masiva de enzimas hidroxilantes; en aves se manifiestan cuadros clínicos caracterizados por edemas abdominales. Además, se han relacionado estos compuestos con algunos efectos teratológicos y fetotóxicos, en rata y ratón; también parecen mostrar propiedades carcinogénicas.

El significado biológico de los PCB en el medio, es aún incierta, y no permite sacar conclusiones suficientemente definitivas, -

por lo que nos limitaremos a enumerar los niveles encontrados en algunas de las especies estudiadas y que resultaron bastante elevadas. En los lucios de García Solá los valores medios para las distintas muestras obtenidas es la siguiente: músculo (0,12 ppm), hígado (4,5 ppm), riñón (1,46 ppm) y gónadas (0,48 ppm); para Orellana son: 0,12, 0,68, 1,50 y 1,0 ppm para las mismas muestras. Los mejillones presentan los valores medios siguientes: Delta del Ebro (1,36 ppm), Barcelona (1,05 ppm), Santander (0,67 ppm), Castellón (0,61 ppm), Blanes (0,58 ppm) y Vigo (0,10 ppm). En sardina se obtienen: Barcelona (7,90 ppm), Palamós (7,70 ppm), Castellón (0,91 ppm), Vigo (0,68 ppm) y Santander (0,54 ppm). Se observa que existe un paralelismo, aunque más elevado, de la sardina con respecto a los mejillones.

APENDICE

=====

NOMENCLATURA QUIMICA DE LOS COMPUESTOS CITADOS.

Aldrín. - 1, 2, 3, 4, 10, 10-hexacloro-1, 4, 4a, 5, 8, 8a-hexahidro-
endo-1, 4-exo-5, 8-dimetanonaftaleno.

Clordano. - 1, 2, 4, 5, 6, 7, 10, 10-octacloro-4, 7, 8, 9-tetrahidro, 4, 7-
endo-metilenindano.

2,4-D. - Acido 2,4-diclorofenoxiacetico.

4,4'-DCBP. - 4,4'-diclorobenzofenona.

p,p'-DDE. - 2,2 bis (p-clorofenil) dicloroetileno.

p,p'-DDT. - 2,2 bis (p-clorofenil) 1,1,1-tricloroetano.

o,p'-DDT. - 2,4, bis (o,p-clorofenil) 1,1,1-tricloroetano.

Dildrín. - 1, 2, 3, 4, 10, 10-hexacloro-exo-6, 7-epoxi-1, 4, 4a, 5, 6, 7,
8, 8a-octahidro-1, 4-endo, exo-4, 8-dimetanonaftaleno.

DTMT (=Thiram). - Disulfuro de tetrametiltiuram.

Endrín. - 1, 2, 3, 4, 10, 10-hexacloro-exo-6, 7-epoxi-1, 4, 4a, 5, 6, 7, 8;
8a-octahidro-1, 4, 5, 8-endo, endo-dimetanonaftaleno.

Guthión. - Diti fosfato de 0,0-dimetilo 3-(4-oxo-1,2,3-benzotriazi
nil-3-metilo).

α-HCH. - α-hexaclorociclohexano.

Heptacloro. - 1,4,5,6,7,8,8-heptacloro-3a,4,7,7a-tetrahidro-4,7-endo-metanoindeno.

Heptacloro epóxido. - 1,4,5,6,7,8,8-heptacloro-2,3-epóxi-4,7-metano-3,4,7,7a-tetrahidroindano.

Hexaclorobenceno. - Hexaclorobenceno.

Lindano. - γ -hexaclorociclohexano.

Malathion. - Ditiófosfato de 0,0-dimetilo S-(1,2-dicarbetoietilo).

Maneb. - Etilenbisditiocarbamato de manganeso.

Metasystox. - Tiofosfato de 0,0-dimetilo y de 0,2-(etiltio) etilo.

Metil-parathion. - 0,0-dimetil de 0,p-nitrofenilfosforotioato.

Metoxicloro. - 1,1,1-tricloro-2,2 bis (p-clorometoxifenil) etano.

Mirex. - Dodecaclorooctahidro-1,3,4-meteno-2H-ciclobuta (cd) pentaleno.

Oxicloruro de cobre. - $\text{Cl}_2\text{Cu} \cdot 3\text{Cu}(\text{OH})_2$.

Parathion. - 0,0-dietiltiofosfato de 0,4-nitrofenilo.

PCB. - Mezcla de bifenilos policlorados.

Sevin. - N-metilcarbamato de 1-naftilo.

Sulfato de cobre. - SO_4Cu .

2,4,5-T..- Acido 2,4,5,-triclorofenoxiacetico.

p,p'-TDE..- (=Rothane).- 2,2 bis (p-clorofenil) dicloroetano.

Telodrín..- 1,3,4,5,6,7,8,8-octacloro-3a, 4, 7, 7a-tetrahidro-4,7-metanonaftaleno.

Thimet..- Ditiofosfato de 0,0-dietilo y 5-metil mercaptoetilo.

Toxafeno..- Mezcla de derivados clorados del canfeno (67-69 % de Cl).

Zineb..- Etilenbisditiocarbamato de cinc.

BIBLIOGRAFIA

=====

- (1) - Fahey J.E. y Still G.W. US Dept. Agr. ARS 33-66,17 (1961).
- (2) - Pflanzenschutz Nachrichten Bayer (1967).
- (3) - Metcalf R.L. Research in Pesticides. Ed. Academic Press - - -
(1965).
- (4) - Report of the Secretary's Commission on Pesticides and their -
Relationship To Envirommental Health. I and II. US. DHEW, -
84, (1969).
- (5) - Report of the Secretary's Commission on Pesticides and their -
Relatioship to Envirommental Health. I and II. US. DHEW. --
176, (1969).
- (6) - Hunt E.G. y Bischoff A.I. Calif. Fish Game, 46 (1), 91 (1960)
- (7) - Woodwell R. The Scientific American, 216, (1967).
- (8) - Stickel L. US Dept. Interior. Special Scientific Report Wild-
life, 119 (1968).
- (9) - Doane C.C. J. Econ. Entomol. 55, 416 (1962).
- (10)- De Witt J.B. y George J.L. US. Fish Wildlife Serv. Circ. -
84,36 (1969).
- (11)- ----- US. Fish Wildlife Serv. Circ. 143,52 (1962).
- (12)- ----- US. Fish Wildlife Serv. Circ. 143,52 (1962).
- (13)- Stern V.M. Research in Pesticides. Ed. Academic Press (1965).
- (14)- Butler P.A. US. Fish Wildlife Serv. Circ. 226,65 (1965).

- (15) - O'Brien R.D. Insecticides. Action and Metabolism. Ed. Academic Press (1967).
- (16) - Stickel L. US. Dept. Interior. Special Scientific Report Wildlife, 119 (1968).
- (17) - Robinson J. Chemistry in Britain, 4, 4, 148 (1968).
- (18) - Yepes L. Industria Química, 24, 7 (1971).
- (19) - Franco J.M., García Dory M.A. y Murado M.A. ADENA, - comunicación privada (1969).
- (20) - Metcalf R.L. Research in Pesticides. Ed. Academic Press - - (1965).
- (21) - Grassé P.P., Poisson R.A. y Tuzet O. Precis de Zoologie. - I. Ed. Masson & Cie (1970).
- (22) - Lozano Rey. Los principales peces marinos y fluviales de España. Subsecretaría de la Marina Mercante. 12 (1964).
- (23) - ----- . Los principales peces marinos y fluviales de - España. Subsecretaría de la Marina Mercante. 25 (1964).
- (24) - Grassé P.P. y Devillers C.H. Precis de Zoologie, II. Masson & Cie. 602 (1970).
- (25) - Peterson R., Mountfort G. y Hollon P.A.D. Guía de Campo de aves de España y Europa. Ed. Omega. 349 (1967).
- (26) - De Faubert Maunder, Egan H., Codly E.W., Hammond E.W. Roburn J. y Thomson J. Analyst 89, 168 (1964).
- (27) - Onley J.H. y Mills P.A. J.Ass. Off. Agr. Chemist. 45, 983 (1962).

- (28) - Teasley J.I. y Cox W.S. J.Amer. Water Works Assoc. 55, 1093 (1963).
- (29) - Monitoring Agricultural Pesticides Residues 1965-67. ARS -- 81-32. USDA (1969).
- (30) - Cummings J.G. et al. J.A.O.A.C. 49,353 (1966).
- (31) - Reynolds L.M. Bull. Envir. Contamin. and Toxic. 4,3,128 - (1969).
- (32) - Harrison, R.B., J.Sci. Fd. Agric., 17, 10 (1966).
- (33) - Robinson, J., Richardson, A., Crabtree, A.N., Coulson, -- J.C. y Potts, G.R., Nature, Lond., 214, 1307 (1967).
- (34) - Simmons, J.H. y Tatton, J.O'G., J. Chromat., 27, 255 (1967)
- (35) - Widmark, G., VI International Congress of Plant Protection, Viena, 1967.
- (36) - Keeman J.H., Ten Noever de Brauw, M.C. y De Vos, R.H., Nature 221, 1126 (1969).
- (37) - "Gas Chromatography, Principles, Techniques and Applications", A.B. Littlewood, Academic Press, New York, London, 1962. "Gas-Liquid Chromatography. Theory and Practice", S. Dal Nogare, Richard S. Juvet, Interscience Publishers, New - York, London, 1962. "Gas Chromatography of Pesticides", - D.M. Coulson, Adv. Pest Control 5, 153 (1962). "Teoria y - Práctica de la Cromatografía en Fase Gaseosa", L. Gascó,- Publicaciones de la Junta de Energía Nuclear, Madrid, 1969.
- (38) - Gaston, L.K., Residue Reviews, 5, 21 (1964).

- (39) - Clark, S.J., Residue Reviews, 5, 32 (1964). Westlake, W.E. y Gunther, F.A., Residue Reviews, 18, 175 (1967).
- (40) - McCulley, K.A. y McKinley, W.P., J. Ass. Offic. Agr. Chemists, 47, 652 (1964).
- (41) - Burke, J.A. y Holswade, W., J.Ass. Offic. Agr. Chemists, - 49, 374 (1966).
- (42) - Richardson, A., Chem. & Ind., 1337 (1965).
- (43) - Henley, R.S., Kruppa, R.F. y Supina, W.P., J. Agr. Food-Chem., 14, 667 (1966).
- (44) - Thompson, J.F., Walker, A.C. y Moseman, R.F., J. Ass. Of fic. Agr. Chemists, 52, 1263 (1969).
- (45) - Phillips, D.D., Pollard, G.E. y Soloway, S.B., J.Agr. Food Chem., 10, 217 (1962).
- (46) - Ott, D.E. y Gunther, F.A., Residue Reviews, 10, 70 (1965).
- (47) - Clark, S.J., Residue Reviews, 5, 32 (1964).
- (48) - New Scientist, 32, 612 (1966).
- (49) - Jensen S. y Widmark G., "Sweden Report to the OECD. - Preliminary Study 1966-67" (Comunicación restringida).
- (50) - Holmes D.C., Simmons J.H. y Tatton J.O'G., Nature, 216, 227 (1967).
- (51) - Koeman J.H., Oskamp A.A.G., Veen J, Brouwer E., Rooth J., Zwart P., van der Broek E. y van Genderen H., Meded Rijksfacultei Landbowetenschappen Gent., 32, 841 (1967).

- (52) - Jensen S., Nucci B., y Widmark G. "Sweden Report to — the OECD. Study of Analysis of PCB" (1968) (Comunicación restringida).
- (53) - Baluja G., Franco J.M., Murado M.A. y Pereiro M^a.E. Anales Soc. Fis. Quim., 66, 157 (1970).
- (54) - Bagley G.E., Reichel W.L. y Cromartie E., J. Ass. Off. — Agr. Chemist, 53, 251 (1970).
- (55) - Baluja G. Dabrio M., Pereiro M^a. E., Franco J.M. y Murado M.A., Agroquim. Tecnol. Alimentos, 9, 137 (1969) G., Castro S., Franco J.M: y Murado M.A., ibid, 11, 260 — (1971).
- (56) - Grolleau G. y Giban J. . J. Appl. Ecology, 3, 208 (1966)
- (57) - Lutz-Ostertag Y. Lutz H., Comptes Rendues. D. Sc. Natur. 269,4 (1969).
- (58) - Kupfer D., Residues Reviews, 19, 15 (1967).
- (59) - Kuntzman R., Schneidman Y y Commey. Mol. Pharmacol., - 1,163 (1965).
- (60) - Kuntzman R y Jacobson M. Federation Proc., 24, 152 (1965).
- (61) - Burdick G.D., Harris E.J., Dean H.J., Walker T.M., Skea J. y Colby D., Trans. Am. Fisheries Soc., 93, 127 (1964).
- (62) - Davis H.C. e Hidu H., Fishery Bull., 67 (2), 393 (1969).
- (63) - Vos J.G., Koeman J.H. y van der Maas, Fd. Cosmet. Toxicol. 8, 625 (1970).
- (64) - Zitko V., Bull. Envirom. Contam. Toxicol. 7, (4) (1972).

- (65) - Johnson D.W., Trans. Am. Fisheries Soc., 97, 378 (1968).
- (66) - Loosanoff V.L., Research in Pesticides. Academic Press, 135 (1965).
- (67) - La Industria Química en España. Comisión Asesora y de Estudios Técnicos de la Industria Química Española (1969).
- (68) - Cope O.B., Jour. of App. Ecology, 3 sup., 33 (1966).
- (69) - Baluja G. y Murado M.A. Second International Congress on Pesticide Chemistry. Tel-Aviv (1971).
- (70) - Murado M.A. Metabolismo de insecticidas órganoclorados - por microorganismos aislados de suelos agrícolas (Tesis Doctoral).
- (71) - Stenersen J.H.V. Nature, 207, 660 (1965). Kallman B.I. y Andrews A.K. Science, 141, 1050 (1963). Fukuto T.R. y Sims J.J. Pesticides in the Environment. Ed. Robert White-Stevens. 1, 1, 204 (1971).